

MAYRA JAMAS

**Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) no
Brasil, com ênfase na região nordeste, com base
em estudos morfológicos e DNA barcodes**

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

SÃO PAULO

2015

MAYRA JAMAS

**Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) no
Brasil, com ênfase na região nordeste, com base
em estudos morfológicos e DNA barcodes**

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

ORIENTADORA: DRA. MUTUE TOYOTA FUJII

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Jamas, Mayra

J27d Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) no Brasil, com ênfase na região nordeste, com base em estudos morfológicos e DNA barcodes / Mayra Jamas -- São Paulo, 2015. 127 p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2015
Bibliografia.

1. Algas. 2. Taxonomia. 3. Barcoding. I. Título.

CDU: 582.26

Aos meus pais,
Marcia e Antônio
e meu irmão Gabriel,
com muito amor!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcuta

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos recursos que também auxiliaram para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente e ao Instituto de Botânica, em especial Núcleo de Pesquisa em Ficologia pela oportunidade de realização do mestrado.

Agradeço especialmente à Dra. Mutue T. Fujii pela orientação, pela oportunidade concedida, pela enorme paciência, dedicação e compreensão que me foram oferecidas.

Também deixo meu sincero agradecimento à colaboradora deste trabalho, Silvia Maria P. B. Guimarães, pelo acolhimento e conselhos valiosos sempre dados de bom grado.

À Cíntia Iha pela amizade, ensinamentos e paciência no meu primeiro contato com a Biologia Molecular. Obrigada também pela leitura e correção da dissertação.

À Dra. Daniela Milstein pela amizade, paciência, ajuda e pelas valiosas contribuições.

Às queridas amigas Marthinha Boker, Daniela Milstein, Beatriz Brunelli, Amanda Leite e Luanda Soares por toda atenção, ajuda, companhia, longas conversas descontraídas e momentos inesquecíveis.

Aos colegas de laboratório Daniella H. Chen, Cecília H. Kano, Julyana da N. Farias e Renato R. Jorge pela convivência e colaboração na rotina do laboratório.

Aos amigos do Núcleo de Pesquisa em Ficologia pelo carinho, companheirismo, amizade, almoços divertidos e auxílio, dentro do laboratório e fora dele.

Aos queridos amigos de coletas, pela ajuda das amostras concedidas, pela companhia e atenção nas viagens que realizamos juntos. Especialmente à Beatriz Torrano-Silva, Carol Azevedo e Talita Vieira-Pinto pela super ajuda com várias amostras coletadas.

Obrigada as minhas amigas Marina Veronesi e Mayra Rodrigues por todos os anos de amizade e por sempre estarem ao meu lado nos momentos mais importantes da minha vida.

À minha família por estar sempre presente e me apoiando. Especialmente à minha Vó, obrigada pelas marmitas, pelo carinho e paciência. Sem vocês teria sido muito mais difícil!

À você, Marcos F. B. Pereira, pelo amor, companheirismo, confiança, apoio e, principalmente, compreensão ao longo desses anos.

Aos meus pais, Marcia R. Mauro e Antônio L. Jamas, pelo apoio, incentivo e por nunca desistirem de mim.

MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
ABREVIATURAS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Importância ecológica e econômica	14
1.2 Aspectos taxonômicos	14
1.3 Estudos da Ordem Gelidiales no Brasil	18
1.4 Justificativa	21
1.5 Hipótese	21
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 Geral	22
2.2 Específicos.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Material.....	23
3.2 Processamento das amostras.....	24
3.3 Estudos morfológicos	24
3.4 Estudos moleculares	26
3.4.1 Extração de DNA e amplificação dos marcadores moleculares.....	26
3.4.2 Purificação e quantificação do produto de PCR.....	27
3.4.3 Sequenciamento de DNA	27
3.4.4 Análises das sequências com proposta de “DNA barcoding”	28
3.4.4 Porcentagem de divergência.....	28
3.4.5 Análise filogenética	29
3.4.6 Banco de dados.....	31
3.5 Resumo das principais etapas da metodologia	32

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	Sinopse dos táxons identificados.....	33
4.1	Análises moleculares	34
4.1.1	Marcador plastidial UPA.....	35
4.1.2	Marcador mitocondrial <i>cox1</i>	39
4.1.3	Verificação do “Barcoding-gap”	45
4.1.4	Análise filogenética com marcador <i>rbcL</i> e <i>cox1</i>	46
4.2	Análise morfológica	49
4.2.1	Chave artificial dicotômica para identificação de Família	49
4.2.2	Descrições dos táxons estudados.....	49
	<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskål) Feldmann & Hamel	50
	<i>Gelidiella ligulata</i> E.Y. Dawson	53
	<i>Parviphycus trinitatis</i> (W.R. Taylor) M.J. Wynne	56
	<i>Parviphycus</i> sp.....	59
	<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	63
	<i>Gelidium floridanum</i> W.R. Taylor	67
	<i>Gelidium microdenticum</i> W.R. Taylor	72
	<i>Gelidium</i> sp. 1.....	75
	<i>Gelidium</i> sp. 2.....	79
	<i>Gelidium</i> sp. 3.....	82
	<i>Gelidium</i> sp. 4.....	86
	<i>Pterocladella bartlettii</i> (W.R. Taylor) Santelices.....	91
	<i>Pterocladella beachiae</i> Freshwater.....	96
	<i>Pterocladella</i> sp.....	101
4.3	Discussão Geral	103
4.4	Distribuição da ordem Gelidiales para o Brasil.....	107
5.	CONCLUSÃO	113
	REFERENCIAS	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Famílias e gêneros aceitos na ordem Gelidiales.	14
Tabela 2. Espécies de Gelidiales citadas para o Brasil.	19-21
Tabela 3. Características morfológicas analisadas em estudos morfológicos de Gelidiales.	25
Tabela 4. <i>Primers</i> utilizados para PCR e sequenciamento nos marcadores moleculares UPA, <i>cox1</i> e <i>rbcL</i>	26
Tabela 5. Etapas do ciclo de amplificação utilizado em PCR.	27
Tabela 6. Sequências de Gelidiales obtidas do GenBank para análises de agrupamento NJ com o marcador <i>cox1</i>	28
Tabela 7. Sequências obtidas do GenBank para análise concatenada com os marcadores <i>cox1</i> + <i>rbcL</i>	30-31
Tabela 8. Quantidade de amostras por espécie coletadas em cada Estado.	34
Tabela 9. Valores de divergência intergenérica para o marcador UPA.	36
Tabela 10. Valores de divergência intergenérica e interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Gelidiellaceae.	36
Tabela 11. Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Gelidiaceae.	37
Tabela 12. Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Pterocladiaceae.	37
Tabela 13. Valores de divergência intergenérica para o marcador <i>cox1</i>	40
Tabela 14. Valores de divergência intergenérica e interespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da família Gelidiellaceae.	40
Tabela 15. Valores de divergência interespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da família Gelidiaceae.	41
Tabela 16. Valores de divergência intraespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da espécie <i>Gelidium crinale</i>	42
Tabela 17. Valores de divergência intraespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da espécie <i>Gelidium</i> sp. 1.	42
Tabela 18. Valores de divergência intraespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da espécie <i>Gelidium</i> sp. 4.	43
Tabela 19. Valores de divergência intraespecífica para o marcador <i>cox1</i> nos representantes da espécie <i>Pterocladia bartlettii</i>	43
Tabela 20. Divergências dos marcadores UPA e <i>cox1</i> e valor de barcoding-gap para as espécies <i>Gelidium crinale</i> e <i>Gelidium</i> sp. 1.	45
Tabela 21. Comparação das características morfológicas diagnósticas de Gelidiales identificadas neste trabalho.	104-105
Tabela 22. Valores de divergência para os marcadores UPA, <i>cox1</i> e <i>rbcL</i> para as espécies <i>G. crinale</i> e <i>Gelidium</i> sp. 1.	107
Tabela 23. Espécies de Gelidiales citadas para o Brasil após o presente estudo.	108-110

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do histórico de vida trifásico de Gelidiales.	13
Figura 2. Características dos representantes da família Gelidiaceae.	15
Figuras 3. Características dos representantes da família Gelidiellaceae.	15
Figura 4. Características dos representantes da família Pterocladiaceae.	16
Figura 5. Cistocarpos dos representantes da família Pterocladiaceae.	17
Figura 6. Mapa do Brasil mostrando o número de amostras de Gelidiales obtidas em cada Estado coletado.	24
Figura 7. Fluxograma com as principais etapas realizadas ao longo do trabalho.	32
Figura 8. Análise de Neighbor-Joinig para as sequências do marcador UPA.	35
Figura 9. Árvore de NJ para as sequências com o marcador <i>cox1</i>	39
Figura 10. Árvore filogenética resultante da análise de inferência bayesiana (BI), com os valores de Bootstrap da máxima verossimilhança (ML) utilizando dados combinados do marcadores <i>cox1</i> e <i>rbcL</i>	46
Figuras 11 – 19. <i>Gelidiella acerosa</i>	52
Figuras 20 – 26. <i>Gelidiella ligulata</i>	55
Figuras 27 – 36. <i>Parviphycus trinitatensis</i>	58
Figuras 37 – 43. <i>Parviphycus</i> sp.	61
Figuras 44 – 53. <i>Gelidium crinale</i>	66
Figuras 54 – 67. <i>Gelidium floridanum</i>	70-71
Figuras 68 – 75. <i>Gelidium microdenticum</i>	74
Figura 76 – 92. <i>Gelidium</i> sp. 1	77-78
Figura 93 – 99. <i>Gelidium</i> sp. 2	81
Figuras 100 – 116. <i>Gelidium</i> sp. 3	84-85
Figuras 117 – 131. <i>Gelidium</i> sp. 4	88-89
Figuras 132 – 146. <i>Pterocladella bartlettii</i>	94-95
Figuras 147 – 160. <i>Pterocladella beachiae</i>	99-100
Figuras 161 – 169. <i>Pterocladella</i> sp.	102
Figura 170. Mapa de distribuição geográfica das espécies de Gelidiales.	112

ABREVIATURAS

BI: Inferência Bayesiana

BLAST: “Basic Local Alignment Search Tool”

BOLD: “Barcode of Life Database Systems”

cox1: região 5’ do gene mitocondrial que codifica para a enzima citocromo oxidase I

DNTp: desoxirribonucleotídeos trifosfatados

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

G.: *Gelidium*

Ge.: *Gelidiella*

ML: máxima verossimilhança

NJ: Neighbor-joining

P.: *Pterocladia*

Pa.: *Parviphycus*

PCR: “Polymerase Chain Reaction” ou reação em cadeia da polimerase

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

RUBISCO: ribulose bifosfato carboxilase oxigenase

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

RESUMO

A ordem Gelidiales Kylin pertence à classe Florideophyceae e atualmente inclui cerca de 200 espécies, distribuídas em dez gêneros e três famílias: Gelidiaceae, Gelidiellaceae e Pterocladaceae. Seus representantes apresentam um conjunto único de características que as delimitam taxonomicamente dentro de Rhodophyta: ágar como componente das paredes celulares; ligações celulares com uma única “cap-layer”; padrão de germinação dos esporos tipo-*Gelidium*; talo com organização uniaxial; carpogônio intercalar nos filamentos vegetativos e ausência de célula auxiliar. Os principais critérios para o reconhecimento dos gêneros e espécies incluem características do desenvolvimento do cistocarpo, arranjo dos tetrasporângios, presença/ausência de rizines, distribuição dos rizines no talo, padrão da arquitetura dos ápices e tipos de estrutura de fixação. A delimitação dos gêneros e o reconhecimento das espécies têm sido extremamente difíceis e controvertidos, pois muitas espécies apresentam grande plasticidade fenotípica, limites taxonômicos não definidos e raramente estão férteis. Devido a estas dificuldades, o emprego de critérios morfológicos tem se mostrado insuficiente para separar adequadamente os gêneros, bem como as espécies, e consequentemente, estudos de sistemática molecular têm sido cada vez mais empregados para identificar e delimitar espécies e inferir afinidades e relações filogenéticas. Gelidiales engloba espécies de importância econômica pela produção de ágar de excelente qualidade e o esclarecimento da identidade dessas espécies é de suma importância. Além disso, vários táxons são ecologicamente importantes pela cobertura significativa nos substratos consolidados. Para o Brasil, estudos de floras regionais ou listas de espécies referem 22 táxons de Gelidiales. O objetivo do projeto foi estudar a diversidade de Gelidiales, com ênfase na região nordeste do Brasil e demonstrar a relevância do estudo taxonômico integrando dados moleculares e morfológicos para documentar a biodiversidade. O material para o presente estudo foi obtido a partir de coletas realizadas principalmente no litoral nordestino. Os estudos morfológicos foram baseados em abordagens taxonômicas atualizadas, com detalhamento dos caracteres vegetativos e reprodutivos, quando presentes. Os marcadores moleculares selecionados são: o Universal Plastid Amplicon (UPA), gene do cloroplasto que transcreve a subunidade grande de ribossomo (23S rRNA), a região 5' do gene da citocromo-oxidase I (*cox1*), ambos com propósito de “DNA barcoding” e o gene do cloroplasto que codifica a subunidade grande da enzima RUBISCO (*rbcL*) para inferir as relações filogenéticas dentro da ordem. Inicialmente, as amostras foram sequenciadas com UPA, para selecionar os representantes de cada espécie e, a partir destas, foram selecionadas amostras de diferentes estados, para serem sequenciadas com *cox1*. Destas, apenas uma ou duas amostras de cada espécie foram selecionadas para serem sequenciadas com *rbcL*. Os protocolos de extração do DNA, amplificação dos marcadores moleculares por PCR, purificação dos produtos, sequenciamento e por fim, alinhamento e análise das sequências estão de acordo com os protocolos usuais em ficologia. A partir de 124 amostras coletadas em 11 estados brasileiros foram identificadas 14 espécies de Gelidiales, sendo quatro pertencentes a Gelidiellaceae: *Gelidiella acerosa*, *Gelidiella ligulata*, *Parviphycus trinitatis* e *Parviphycus* sp.; sete a Gelidiaceae: *Gelidium crinale*, *Gelidium floridanum*, *Gelidium microdenticum*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3 e *Gelidium* sp. 4; e três Pterocladaceae: *Pterocladella bartlettii*, *Pterocladella beachiae* e *Pterocladella* sp. Essas espécies se mostraram distintas para todos os marcadores moleculares utilizados e puderam ser perfeitamente diferenciadas com características morfológicas observadas. A exceção foi *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1, que foram consideradas espécies crípticas por não apresentarem diferenças morfológicas significativas, porém as divergências genéticas permitiram identificá-las como entidades distintas. As análises realizadas com UPA, *cox1* e *rbcL* resultaram árvores com topologias semelhantes. As variações intraespecíficas encontradas para UPA, *cox1* e *rbcL* foram de 0-0,5%, 0-3,5% e 0-0,7%, respectivamente e as interespecíficas, de 0,5-5,4%, 5,5-14,6% e a partir de 0,9%. Os estudos morfológicos aliados aos dados moleculares foram imprescindíveis para confirmar a identificação das espécies estudadas.

Palavras-chave: barcoding, Gelidiales, morfologia, UPA, *cox1*, *rbcL*.

ABSTRACT

The Gelidiales Kylin belongs to the Florideophyceae and currently includes about 200 species, distributed in ten genera and three families: Gelidiaceae, Gelidiellaceae and Pterocladaceae. Its representatives have a unique set of characteristics that taxonomically delimit within Rhodophyta: agar as a component of the cell walls; cellular connections with a single "cap-layer"; germination of spores *Gelidium*-type pattern; thallus with uniaxial organization; intercalary carpogonial branch on inner cortical cells, and absence of auxillary cell. The main criteria for the recognition of the genera and species include cystocarp development, tetrasporangial arrangement, presence/absence and distribution of rhizines on the thalli, apex architecture pattern and the types of prostrate system. The delimitation of the genera and species recognition have been extremely difficult and controversial, since many species have large phenotypic plasticity, non-defined taxonomic boundaries and rarely fertile. Due to these difficulties, the use of morphological criteria has been proved insufficient to adequately distinguish genus, as well the species, and consequently, molecular systematic studies have been extensively used to identify and delimit species and infer phylogenetic relationships its and affinities. Gelidiales includes species of economic importance for the production of an excellent quality agar and clarifying the identity of the species is of the great importance. In addition, several taxa are ecologically important with significant coverage in the consolidated substrates. In Brazil, floristic studies or lists of species referred 22 taxa of Gelidiales. The objective of this project was to study the diversity of Gelidiales from Brazil, with emphasis in northeastern region, and to demonstrate the relevance of taxonomic study integrating molecular and morphological data to document the biodiversity. The material for this study was obtained from collecting carried out mainly in the northeastern coast. The morphological studies were based on taxonomic approaches updated with details of the vegetative and reproductive characters, if present. The selected molecular markers are the Universal Plastid Amplicon (UPA), chloroplast gene that transcribe to large subunit of ribosome, the 5' region of the mitochondrial gene cytochrome oxidase I (*cox1*), both with regard the "DNA barcoding" and chloroplast gene that codify the large subunit of RUBISCO (*rbcL*) for inferring phylogenetic relationships within the order. Initially, samples were sequenced with UPA, to select the representatives of each species and, from these, samples were selected from different states, to be sequenced with *cox1*. Of these, only one or two samples from each species were selected to be sequenced with *rbcL*. The DNA extraction protocols, molecular markers amplification by PCR, purification of the product, and finally, sequencing, alignment and sequence analysis are in agreement with the usual protocols Phycology. From 124 samples collected in 11 Brazilian states 14 species of Gelidiales were identified, four belonging to Gelidiellaceae: *Gelidiella acerosa*, *Gelidiella ligulata*, *Parviphycus trinitatis* and *Parviphycus* sp.; seven to Gelidiaceae: *Gelidium crinale*, *Gelidium floridanum*, *Gelidium microdenticum*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3 and *Gelidium* sp. 4; and three Pterocladaceae: *Pterocladella bartlettii*, *Pterocladella beachiae* and *Pterocladella* sp. These species were different for all the molecular markers used and could be perfectly differentiated with morphological characteristics. The exception was *Gelidium crinale* and *Gelidium* sp. 1, which were considered cryptic species for not presenting significant morphological differences, but the genetic differences allowed us to identify them as separate entities. The UPA, *cox1* and *rbcL* analyzes resulted the similar topology trees. The intraspecific variations found to UPA, *cox1* and *rbcL* were 0-0.5%, 0-3.5% and 0-0.7% respectively and interspecific variations, from 0.5-5.4%, 5.5-14.6% and from 0.9%. The morphological studies combined with the molecular data were essential to confirm the identification of the species.

Keywords: barcoding, Gelidiales, morphology, UPA, *cox1*, *rbcL*.

1. INTRODUÇÃO

As algas vermelhas (filo Rhodophyta) são organismos conspícuos da flora dos ecossistemas marinhos de regiões tropicais, temperadas e polares, apresentando grande diversidade em ambientes tropicais. Conhecidas pela sua importância como produtores primários, além do papel ecológico, o grupo é reconhecido por sua importância econômica, pois várias espécies são exploradas comercialmente pela indústria alimentícia, farmacêutica e química (Tseng, 1981).

As rodofíceas apresentam grande diversidade morfológica, reprodutiva e de ciclos de vida, inerentes a uma história evolutiva antiga. Essa diversificação levou à distinção de sete linhagens principais, em nível de classe, com suporte de dados de ultraestrutura e informações de sequências de DNA (Yoon *et al.*, 2006) que foram recentemente revisados e confirmados por Yoon *et al.* (2010). São elas: Cyanidiophyceae, Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae, Porphyridiophyceae, Rhodellophyceae e Stylonematophyceae. A primeira pertence ao subfilo Cyanidiophytina enquanto as demais pertencem ao subfilo Rhodophytina (Yoon *et al.*, 2006).

A classe Florideophyceae inclui a maioria das espécies de Rhodophyta (cerca de 6.000) (Graham & Wilcox, 2009), apresentando grande plasticidade morfológica e de histórico de vida. A maioria dos representantes é multicelular (Saunders & Hommersand, 2004), cresce através de células apicais, apresenta talo constituído por filamentos (talo pseudoparenquimatosos) e ligações celulares (“pit-connections”) (Graham & Wilcox, 2009).

A ordem Gelidiales Kylin está inserida na classe Florideophyceae e seus representantes apresentam um conjunto único de características que as delimitam taxonomicamente dentro de Rhodophyta (Hommersand & Fredericq, 1988; Pueschel & Cole, 1982; Santelices, 1990): ágar como componente das paredes celulares; ligações celulares com uma única “cap-layer” (Pueschel & Cole, 1982); padrão de germinação dos esporos tipo-*Gelidium*, onde a maior parte do conteúdo da célula é transferida para uma protuberância que dará origem ao rizóide e ao talo (Guiry, 1990); talo com organização uniaxial, com célula apical evidente (Dixon, 1958; Fan, 1961); carpogônio intercalar nos filamentos vegetativos, e célula auxiliar ausente (Hommersand & Fredericq, 1988); espermatângios divididos transversalmente a partir das células corticais (Fan, 1961) e traspórângios cruciada ou tetraedricamente divididos. O histórico de vida é trifásico, com gametófitos e tetrásporófitos isomórficos (Figura 1), com exceção do gênero *Capreolia* Guiry & Womersley, que é heteromórfico e difásico, sem a geração carposporofítica (Santelices, 1988; Womersley, 1994).

1.1 Importância ecológica e econômica

Muitas espécies de Gelidiales são ecologicamente importantes devido ao seu domínio local na cobertura ou biomassa (Santelices, 1990), além do seu papel como produtor primário de matéria orgânica, alimento e habitat para animais e microrganismos e, ainda, como estabilizador de sedimentos do fundo reduzindo material em suspensão. Representantes desta ordem possuem um importante papel no mercado econômico sendo utilizados como fonte de alimento e de ágar de alta qualidade (Santelices & Stewart, 1985; Santelices, 1990). O ágar de Gelidiales é utilizado pelas indústrias para preparação de meio de cultura bacteriológico em laboratórios, fabricação de géis utilizados em processos de extração e amplificação de material genético nas áreas da biologia molecular e na biotecnologia.

1.2 Aspectos taxonômicos

Atualmente, a ordem Gelidiales inclui 197 espécies, distribuídas em 10 gêneros e três famílias: Gelidiaceae Kützinger, Gelidiellaceae Fan e Pterocladiaceae Felcini & Perrone (Schneider & Wynne, 2007; Guiry & Guiry, 2015) (Tabela 1).

Tabela 1. Famílias e gêneros aceitos na ordem Gelidiales.

Família	Gênero	Nº de Espécies
Gelidiaceae Kützinger	<i>Acanthopeltis</i> Okamura in Yatabe	151
	<i>Capreolia</i> Guiry & Womersley	
	<i>Gelidium</i> Lamouroux	
	<i>Gelidiophycus</i> Boo, Park & Boo	
	<i>Ptilophora</i> Kützinger	
Gelidiellaceae Fan	<i>Gelidiella</i> Feldmann & Hamel	23
	<i>Parviphycus</i> Santelices	
Pterocladiaceae Felcini & Perrone	<i>Aphanta</i> Tronchin & Freshwater	23
	<i>Pterocladia</i> Agardh	
	<i>Pterocladella</i> Santelices & Hommersand	

Gelidiaceae é a maior família da ordem Gelidiales, com 151 espécies, pertencentes a cinco gêneros: *Acanthopeltis* Okamura in Yatabe, *Capreolia* Guiry & Womersley, *Gelidium* Lamouroux, *Gelidiophycus* Boo, Park & Boo, e *Ptilophora* Kützinger. Representantes desta família apresentam apressório do tipo “brush-like” (que consiste em um conjunto de filamentos rizoidais que crescem desorganizadamente a partir de células corticais internas do estolão, conferindo a forma de pincel), gametófitos dioicos (às vezes monoicos); cistocarpos biloculares, salientes em ambos os lados da fronde, com um ostíolo em cada lado e carposporângios desenvolvendo-se em ambos os lados do cistocarpo (Figura 2).



Figura 2. Características dos representantes da família Gelidiaceae. A - Apressório do tipo “brush-like”. B – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando a formação dos filamentos rizoidais crescendo desorganizadamente a partir de células corticais internas (seta). C – Cistocarpo bilocular (setas), com carposporângios que se desenvolvem para ambos os lados do cistocarpo.

Em Gelidiellaceae são reconhecidas 23 espécies, distribuídas em dois gêneros, *Gelidiella* Feldmann & Hamel e *Parviphycus* Santelices. A família é caracterizada por apresentar um sistema de fixação composto por filamentos rizoidais independentes de parede grossa, originados a partir das células corticais externas (Figura 3) e pela ausência de rizines. A fase gametofítica é praticamente desconhecida (Fan, 1961), embora espermatângios tenham sido encontrados por Santelices (1997) e Santelices & Flores (2004).

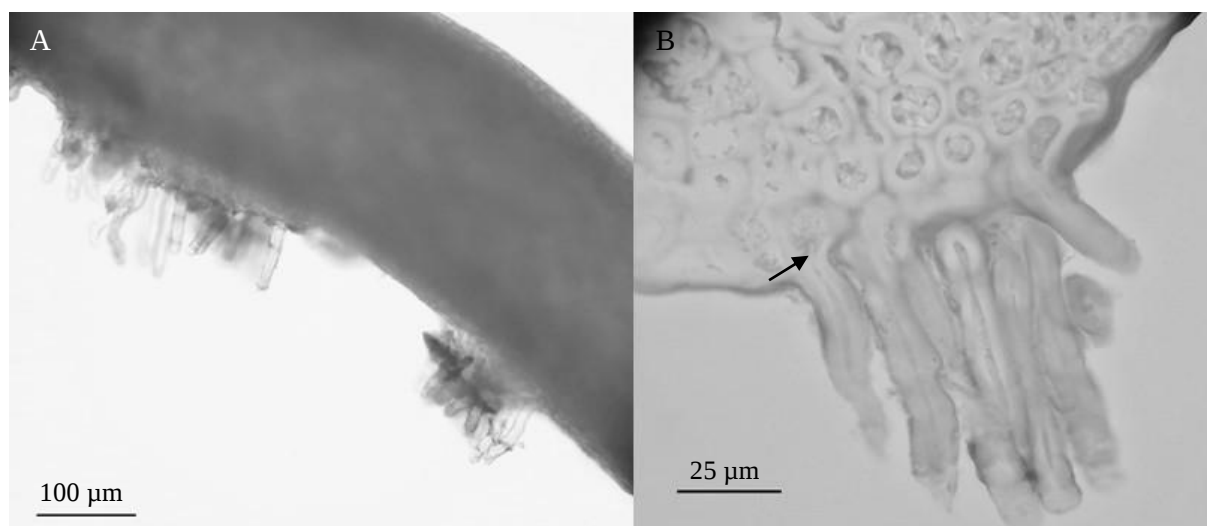


Figura 3. Características dos representantes da família Gelidiellaceae. A – Estolão com filamentos rizoidais independentes. B – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal dos filamentos mostrando a formação dos filamentos rizoidais a partir das células corticais externas (seta).

A família Pterocladiaceae é composta pelos gêneros *Aphanta* Tronchin & Freshwater, *Pterocladia* J. Agardh e *Pterocladella* Santelices. & Hommersand, compreendendo 23 espécies. Seus representantes são caracterizados por apresentarem apressório do tipo “peg-like”

(formado por filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão, mas crescendo paralelamente uns aos outros para o exterior de forma organizada, circundados por uma bainha grossa, conferindo um formato de pino) (Figura 4); origem e desenvolvimento dos carposporângios e pelas características do cistocarpo.

O carposporófito dos representantes do gênero *Pterocladia* desenvolve-se ao redor da célula axial, porém um dos lados do carposporófito permanece ligado ao assoalho do cistocarpo, sendo os carposporângios produzidos nas demais áreas (Figura 5A). Nos representantes de *Pterocladia* filamentos emaranhados formam uma base para o desenvolvimento do carposporófito que produz os carposporângios somente em um lado da superfície do cistocarpo (Figura 5B).

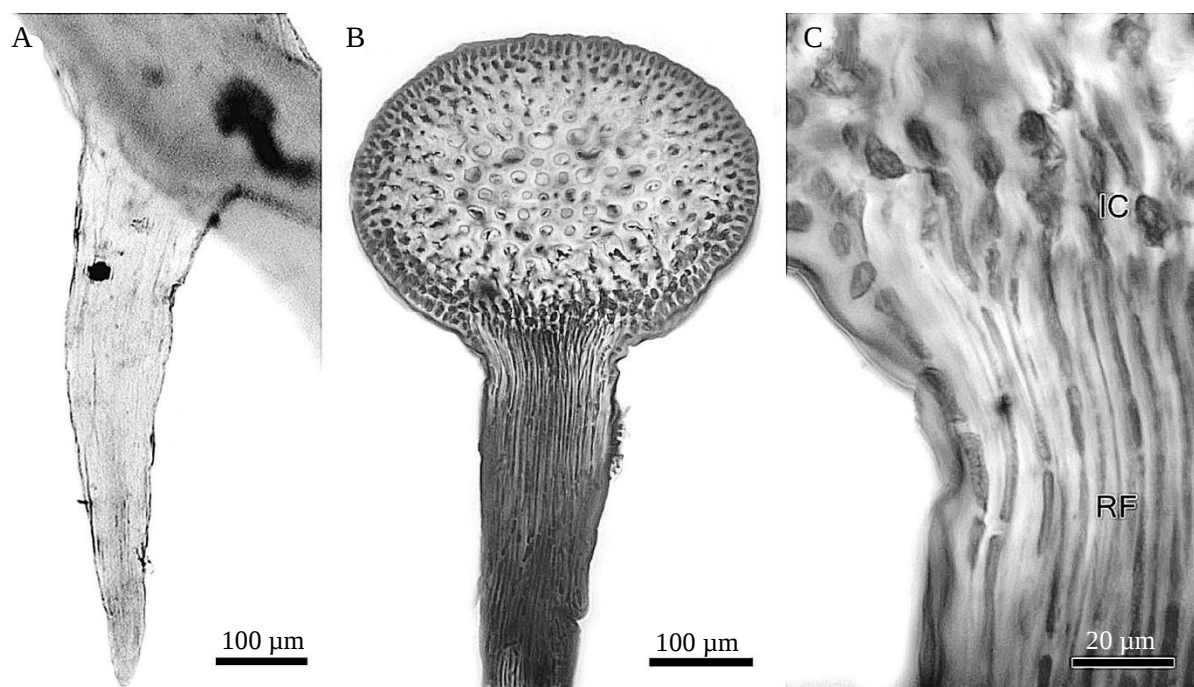


Figura 4. Características dos representantes da família Pterocladaceae. A – Apressório do tipo “peg-like”. B – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório. C – Detalhe do corte mostrando a formação dos filamentos rizoidais (RF) a partir de células corticais internas (IC), que crescem paralelamente uns aos outros de forma organizada (modificadas de Tronchin & Freshwater, 2007).

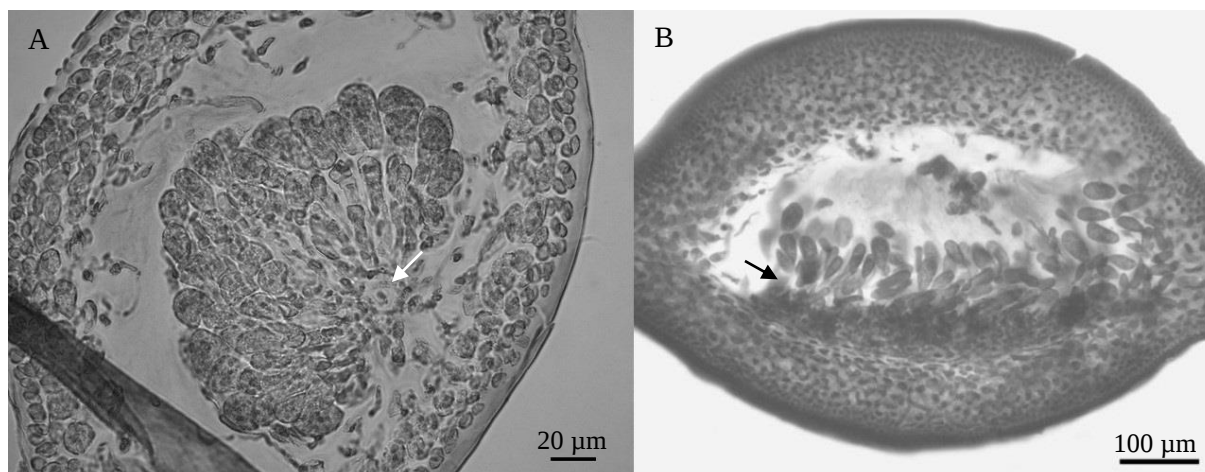


Figura 5. Cistocarpos dos representantes da família Pterocladaceae. A – Carposporófito desenvolve-se ao redor da célula axial (seta), porém com um dos lados do gonimoblasto fixo ao assoalho do cistocarpo, sendo os carposporângios produzidos nos lados restantes, característica do gênero *Pterocladia*. B – Carposporófito produz os carposporângios somente em uma das superfícies da fronde (seta), característica do gênero *Pterocladia* (modificada de Millar & Freshwater, 2005).

Os critérios para reconhecimento de gêneros e espécies em Gelidiales incluem as características vegetativas, tais como cor e tamanho do talo, padrão de ramificação, tipo de estrutura de fixação, forma do ramo principal e do ápice, distribuição das rizines no talo e as estruturas reprodutivas, como se seguem: em plantas tetraspóricas (localização dos esporângios, presença ou ausência de margens estéreis no soro de tetrasporângios, padrão de desenvolvimento e divisão dos tetrasporângios); em plantas femininas (localização do cistocarpo nos ramos férteis, forma do cistocarpo, se o mesmo é unilocular ou bilocular) e em plantas masculinas (localização dos soros de espermatângios), além de monoiccia ou dioiccia (Feldmann & Hamel, 1934; Okamura, 1934; Stewart, 1968; Akatsuka, 1986; Rodríguez & Santelices, 1988; Norris, 1992; Perrone *et al.*, 2006; Santelices, 2007).

A identificação de espécies em Gelidiales com base apenas em caracteres morfológicos possui grandes limitações, devido à ampla plasticidade fenotípica, dificuldade em encontrar espécimes férteis e ocorrência de espécies crípticas no grupo (Santelices, 1990). Em vista disso, o emprego de critérios morfológicos em Gelidiales, em muitos casos, tem-se mostrado insuficiente para delimitar adequadamente os gêneros e as categorias infragenéricas, pois os limites de separação são muito tênues, levando a constantes mudanças taxonômicas e nomenclaturais. Consequentemente, estudos de sistemática molecular têm sido cada vez mais empregados para identificar e delimitar espécies e inferir afinidades e relações filogenéticas dentro da ordem (Freshwater & Rueness, 1994; Freshwater *et al.*, 1995; Millar & Freshwater, 2005; Freshwater *et al.*, 2010; Boo *et al.*, 2013).

Uma das ferramentas moleculares que auxiliam a identificação de espécies é a técnica de “DNA barcoding”, denominada em analogia ao sistema de código de barras utilizado em produtos manufaturados. Essa técnica é baseada nas sequências de marcadores moleculares de tamanho relativamente curto que contenham variação de nucleotídeos suficiente para distinção de organismos em nível de espécie e que possam ser comparadas com outras disponíveis em banco de dados. Esta técnica começou a ser utilizada principalmente em animais (Hebert *et al.*, 2003), mas Saunders (2005) mostrou que ela também é adequada para Rhodophyta, usando o marcador correspondente a região 5’ do gene mitocondrial que codifica para a enzima citocromo c oxidase I (COI-5P ou *cox1*) em um total de 250 indivíduos, distribuídos em 15 famílias e seis ordens. Mais recentemente diversos estudos demonstraram também sucesso dessa técnica em outras espécies de algas (Sherwood & Presting, 2007; Sherwood *et al.*, 2008; Clarkston & Saunders, 2010; Freshwater *et al.*, 2010; Le Gall & Saunders, 2010; Saunders & McDonald, 2010; Guimarães, 2011; Milstein *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012; Milstein & Saunders, 2012; Costa, 2013; Medeiros, 2013; Silva, 2013; Iha, 2014).

Entretanto, há a necessidade de combinar *primers* para sequenciar espécies até mesmo estreitamente relacionadas (Clarkston & Saunders, 2010), dificultando estudos taxonômicos com diversos grupos de algas vermelhas (Sherwood *et al.*, 2010 b).

Devido a essa dificuldade para selecionar os *primers* em *cox1*, a utilização do marcador que corresponde a região do gene do cloroplasto que codifica o RNA da subunidade grande do ribossomo (23SRNAr), conhecido como “Universal Plastid Amplicon– UPA” (Presting, 2006; Sherwood & Presting, 2007; Sherwood, *et al.* 2010), pode ser utilizado para uma primeira triagem das espécies, já que os *primers* são universais (Iha, 2014); até que *primers* universais sejam selecionados para *cox1*. Entretanto esse marcador é considerado muito conservado, dificultando detectar uma divergência suficiente para separar espécies estreitamente relacionadas, característica crítica para fins de “DNA barcoding” (Sherwood *et al.*, 2010 b).

O gene do cloroplasto que codifica a subunidade grande da enzima RUBISCO (*rbcL*) também é muito utilizado em estudos moleculares, principalmente para análises filogenéticas (Bailey & Freshwater, 1997), apresentando grande quantidade de sequencias disponíveis nos bancos de dados. Entretanto, esse gene, quando sequenciado inteiramente, não pode ser considerado como “DNA barcode” já que apresenta um segmento muito longo de DNA, sendo necessário diversos *primers* para o sequenciamento.

1.3 Estudos da Ordem Gelidiales no Brasil

Trabalhos taxonômicos sobre representantes da ordem Gelidiales são principalmente referentes a estudos de floras regionais ou a listas de espécies (Cordeiro-Marinho, 1978;

Oliveira *et al.*, 2002; Nunes, 2005; Araujo *et al.*, 2008; Creed *et al.*, 2010; Silva, 2010). As exceções são os trabalhos específicos de Ugadim (1985, 1988) que realizou um estudo morfológico dos os gêneros *Gelidium* e *Pterocladia* (como *Pterocladia*) para todo o litoral brasileiro, o trabalho de Fernandes & Guimarães (1998) sobre Gelidiales do Espírito Santo e o trabalho de Iha (2014), que representa o primeiro estudo morfológico e molecular em Gelidiales para região sudeste do Brasil.

Muitas das espécies brasileiras não tiveram sua taxonomia esclarecida, sendo consideradas de ocorrência duvidosa ou podendo até mesmo tratar-se de uma identificação equivocada, como o exemplo o caso de *Gelidium pusillum* var. *conchicola* Piccone & Grunow, que já foi demonstrado com base em características moleculares, que se trata de *Gelidium microdenticum* W.R. Taylor e que *Gelidium pusillum* está restrito ao Atlântico europeu (Thomas & Freshwater, 2001).

Até o momento, 22 espécies de Gelidiales são referidas para o Brasil, sendo a sua grande maioria citada para a região sudeste (Tabela 2). Entretanto, muitas dessas identificações devem ser revisadas para confirmação e compreensão da real diversidade desse grupo de algas no país.

Tabela 2. Espécies de Gelidiales citadas para o Brasil.

Especies	Estados	Referências
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskål) Feldmann & Hamel	CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES, RJ, Atol das Rocas e Arq. Fernando de Noronha	Oliveira Filho & Ugadim (1976); Yoneshigue (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Silva (2010); Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Gelidiella hancockii</i> E.Y. Dawson	SP	Ugadim (1974); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).
<i>Gelidiella ligulata</i> E.Y. Dawson	RN, BA, ES, RJ, SP	Fernandes & Guimarães (1998); Nunes (2005); Silva (2010); Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Gelidium americanum</i> (W.R. Taylor) Santelices	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, SP, SC	Joly (1965); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Araujo <i>et al.</i> (2008); Guimarães (2015).
<i>Gelidium coarctatum</i> Kützinger	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Silva (2010); Pereira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	PA, MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, PR, SC, RS e Arq. Fernando de Noronha	Joly (1965); Ugadim (1974); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009);

		Silva (2010); Batista (2012); Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Gelidium floridanum</i> W.R. Taylor	CE, PE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Ugadim (1974); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012); Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Gelidium isabelae</i> W.R. Taylor	RN	Silva (2010)
<i>Gelidium microdenticum</i> W.R. Taylor	ES, RJ, SP	Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Gelidium pusillum</i> (Stackhouse) Le Jolis	CE, PB, PE, BA, RJ, SP, PR, SC e Arq. Fernando de Noronha	Joly (1957, 1965); Ugadim (1974); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012).
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G. Gmelin) P.C. Silva	CE, PB, PE, SE, BA, RJ, SP, PR, SC e Arq. Fernando de Noronha	Ugadim (1974, 1985); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Guimarães (2015).
<i>Gelidium torulosum</i> Kützinger	PE, BA, ES, SP, PR, SC	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Guimarães (2015).
<i>Parviphycus pannosus</i> (Feldmann) G. Furnari	CE, RJ, SP, SC	Joly (1965); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Guimarães (2015).
<i>Parviphycus setaceous</i> (Feldmann) Afonso-Carrillo, Sanson, Sangil & Diaz-Villa	BA, RN, Atol das Rocas	Oliveira Filho & Ugadim (1976); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).
<i>Parviphycus trinitatensis</i> (W.R. Taylor) M.J. Wynne	CE, RN, BA, ES, RJ, SP, SC	Joly (1957, 1965); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Silva (2010); Guimarães (2015).
<i>Pterocladia australafricanensis</i> Tronchin & Freshwater	ES	Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Pterocladia bartlettii</i> (W.R. Taylor) Santelices	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, SC	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Nunes (2005); Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Pterocladia beachiae</i> Freshwater	ES, RJ, SP	Iha (2014); Guimarães (2015).
<i>Pterocladia caerulescens</i> (Kützinger) Santelices & Hommersand	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, SC	Joly (1957); Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Silva (2010); Guimarães (2015).
<i>Pterocladia capillacea</i> (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	CE, RN, ES, RJ, SP, PR, SC e Atol das Rocas	Joly (1957, 1965); Ugadim (1974; 1985); Yoneshigue (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012); Iha (2014)

<i>Pterocliadiella sanctarum</i> (Feldmann & G. Hamel) Santelices	RN, BA	Nunes (2005); Guimarães (2015).
<i>Pterocliadiella taylorii</i> (A.B. Joly) Santelices	RJ, SP	Joly (1957), Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).

1.4 Justificativa

Foram realizados muito estudos taxonômicos para a costa brasileira envolvendo representantes da ordem Gelidiales, entretanto sua grande maioria é limitado por se restringirem à apenas estudos morfológicos, sendo o reconhecimento das espécies problemático e controvertido, principalmente na região nordeste do Brasil, onde ainda não há estudos combinados da biologia molecular e estudos morfológicos para confirmação das espécies. Seus representantes também apresentam um importante valor econômico devido a extração do agar de excelente qualidade utilizado principalmente pela indústria biotecnológica.

O presente estudo foi desenvolvido como parte de Projetos que receberam financiamento de órgãos de fomento através de: “Rede Brasileira de Identificação Molecular de Organismos Marinhos” (CNPq, Processo N° 564945/2010-2, coordenado pela Dra. M.C. Oliveira) e “Abordagem filogenética e filogeográfica, com base em dados moleculares, em representantes de Ceramiales e Gelidiales (Rhodophyta) no Brasil” (FAPESP N° Processo: 2012/18775-6, coordenado pela Dra. Mutue T. Fujii), ainda em desenvolvimento. Dentro deste último projeto foram feitas coletas em vários locais ao longo da costa brasileira, incluindo a região nordestina, cujo material foi aproveitado no presente projeto. Neste contexto, o presente projeto está contribuindo com a identificação das espécies de Gelidiales por meio de estudos morfológicos integrados aos dados de “DNA barcoding” e de distribuição geográfica.

1.5 Hipótese

Com a utilização da ferramenta molecular integrada aos dados morfológicos e de distribuição geográfica obtém-se uma melhor delimitação dos táxons e conhecimento da diversidade de Gelidiales no Brasil, principalmente para o nordeste do país.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Estudar a diversidade de espécies da ordem Gelidiales, com ênfase na região nordeste do Brasil, integrando sequências de DNA com dados morfológicos e de distribuição geográfica.

2.2 Específicos

- Identificar, descrever e ilustrar as espécies de Gelidiales, coletadas principalmente no litoral nordestino, com base em características morfológicas e moleculares.
- Conhecer a plasticidade fenotípica de cada espécie identificada.
- Conhecer a distribuição das espécies de Gelidiales no Brasil e suas afinidades biogeográficas.
- Subsidiar a validação da ferramenta “DNA barcoding” para Rhodophyta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

As espécies de Gelidiales utilizadas no presente trabalho foram coletadas, principalmente, no litoral nordestino e também obtidas através de colaboração com outros pesquisadores.

As coletas no litoral nordestino foram realizadas juntamente com o estabelecido no projeto principal, “Abordagem filogenética e filogeográfica, com base em dados moleculares, em representantes de Ceramiales e Gelidiales (Rhodophyta) no Brasil”, para a otimização dos recursos e logística da viagem. Os sítios de coletas do projeto principal foram determinados dando ênfase aos locais considerados barreiras biogeográficas para organismos marinhos, tais como ambientes sob influência de ressurgência ou aporte de grande volume de água doce (desembocadura de grandes rios), criando barreiras geográficas de acordo com Voloch & Solé-Cava (2005) e Santos *et al.* (2006). Além dos locais de coleta considerados como barreiras biogeográficas, outras regiões sem essas características também foram incluídas. Ao todo foram obtidas 114 amostras, provenientes de oito estados da região nordeste do Brasil: Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, oito amostras obtidas em outros estados: Espírito Santo, São Paulo e Paraná, totalizando 124 amostras, conforme figura 6.

As coletas foram realizadas na região entremarés de recifes e costões rochosos durante a maré baixa. Todas as amostras obtidas foram georeferenciadas com o uso de GPS (Global Positioning System), registrando-se o município, local e ambiente de coleta e demais dados relevantes, que serão incluídos no Banco de dados do **Sinbiota**.

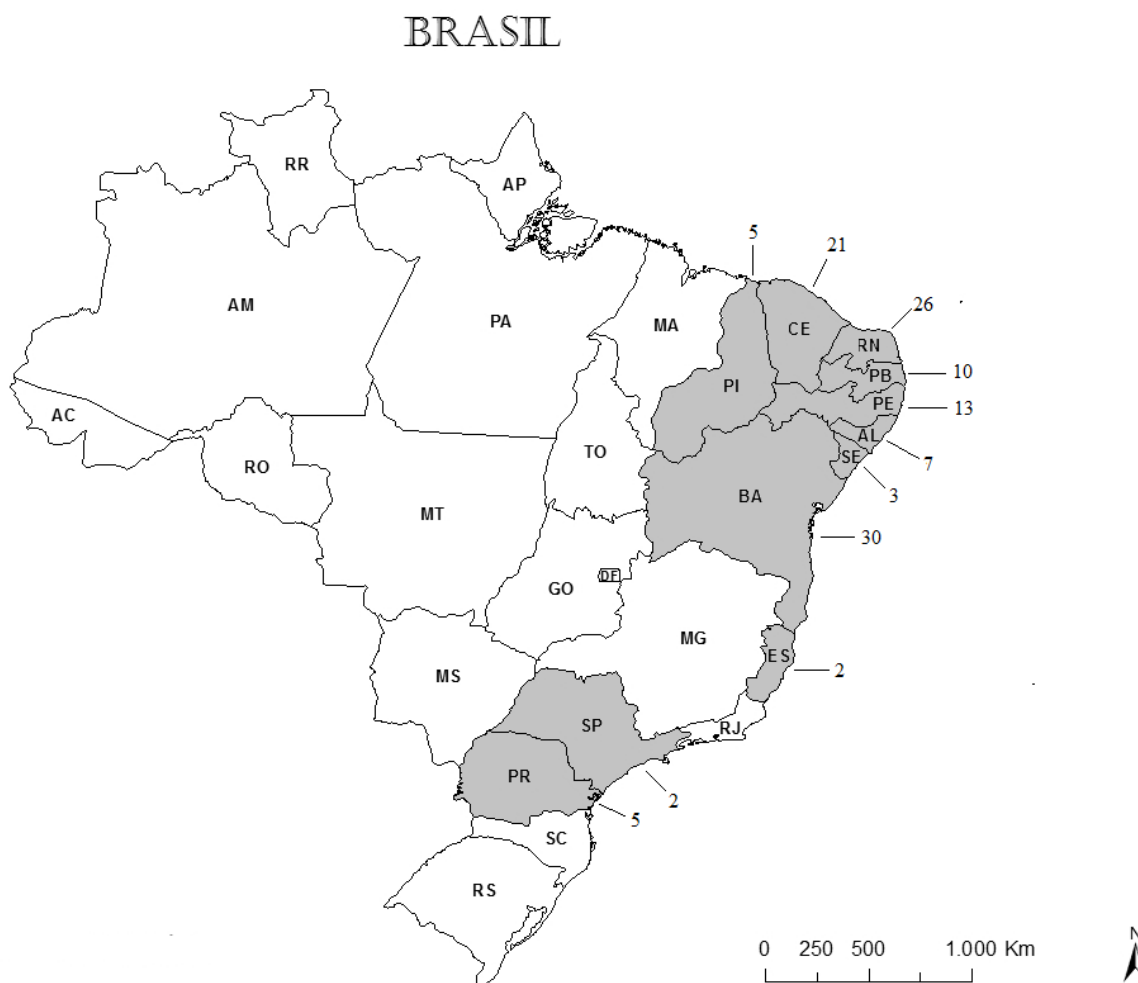


Figura 6. Mapa do Brasil mostrando o número de amostras de Gelidiales obtidas em cada Estado coletado (destacado).

3.2 Processamento das amostras

As amostras foram processadas logo após as coletas, iniciando com a limpeza, excluindo-se as impurezas, e regiões apicais ou talos jovens, normalmente mais livres de epífitas e com parede celular menos espessa, foram selecionados, lavados em água do mar, enxugados com papel absorvente e colocados imediatamente em sílica gel para secagem rápida, para os estudos moleculares. O remanescente dos exemplares de onde foram removidas as amostras para extração de DNA foi fixado em formol 4% para os estudos morfológicos e posterior confecção de exsicatas que foram incluídas nos acervos do herbário do Instituto de Botânica, em São Paulo (SP).

3.3 Estudos morfológicos

A identificação do material foi baseada em abordagens atualizadas da taxonomia, com estudos detalhados dos caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos (Tabela 3), contemplando especialmente aqueles que são diagnósticos para as espécies (Fan, 1961;

Ugadam, 1985; Fernandes & Guimarães, 1998; Thomas & Freshwater, 2001; Santelices, 2004; Millar & Freshwater, 2005; Perrone *et al.*, 2006; Tronchin & Freshwater, 2007; Iha, 2014). Os cortes anatômicos foram feitos à mão-livre com auxílio de uma lâmina de barbear, sob microscópio estereoscópio e corados com azul de anilina a 1%, acidificada com HCl 1N. As ilustrações dos aspectos gerais e dos caracteres diagnósticos de cada espécie foram obtidas com câmera digital AxioCam acoplada ao microscópio e/ou ao estereomicroscópio (Zeiss, Alemanha).

Tabela 3. Características morfológicas analisadas em estudos morfológicos de Gelidiales.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS	
Caracteres vegetativos	
1.	Cor do talo.
2.	Tamanho do talo.
3.	Padrão de ramificação: simples, alterna, dicotômica, pinada ou irregular.
4.	Tipo de estrutura de fixação: • filamentos rizoidais independentes, apressório do tipo “brush-like” ou apressório do tipo “peg-like” • Presença/ausência de corticação no apressório; • Forma do estolão: cilíndrico, comprimido ou achatado.
5.	Ramo ereto: • Forma do ramo principal: cilíndrico, comprimido ou achatado; • Forma dos ápices: agudo/obtusos; • Célula apical localizada entre dois lobos corticais ou não; • Número de camadas de células na medula e no córtex; • Forma das células medulares e da camada mais externa do córtex: circulares, transversalmente elípticas ou radialmente elípticas; • Organização das células medulares centrais: formam ou não uma fileira de células; • Distribuição dos rizines.
Caracteres Reprodutivos	
6.	Plantas tetraspóricas: • Localização dos soros de tetrasporângio nos ramos férteis; • Presença/ausência de margens estéreis no soro de tetrasporângios; • Margens estéreis afiladas ou arredondadas; • Padrão de desenvolvimento dos tetrasporângios no soro: acrópeto, basípeto ou irregular; • Padrão de divisão do tetrasporângio: tetraédrica ou cruciada.
7.	Plantas gametofíticas: • Monoicas ou dioicas.
8.	Plantas femininas: • Localização dos cistocarpos nos ramos férteis; • Forma do cistocarpo e padrão da saliência: dos dois lados ou de um lado da fronde; • Quantidade de lóculos: unilocular ou bilocular; • Padrão de distribuição de rizines no cistocarpo.
9.	Plantas masculinas: • Localização dos soros de espermatângios nos ramos férteis; • Padrão de divisão do espermatângio formando o espermacio.

3.4 Estudos moleculares

3.4.1 Extração de DNA e amplificação dos marcadores moleculares

O material algáceo seco foi macerado em um homogeneizador de tecidos (Precellys), por 10 segundos a 5300 rpm (rotações por minuto), repetido por três vezes. As extrações de ácidos nucleicos foram feitas utilizando-se o kit de extração de tecidos vegetais “NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha), de acordo com o protocolo do fornecedor. O DNA extraído foi utilizado para a amplificação da sequência-alvo usando-se *primers* específicos para os diferentes marcadores moleculares, região 5' do gene mitocondrial que codifica para a enzima citocromo oxidase I, *cox1*, a região do cloroplasto que transcreve o RNA da subunidade grande do ribossomo (23SRNAr), conhecido como “Universal Plastid Amplicon” (UPA) e o gene do cloroplasto que codifica a subunidade grande da ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO) (*rbcL*) (Tabela 4). A amplificação foi feita através da "Polymerase Chain Reaction" ou PCR (Sambrook *et al.* 1989). As condições de amplificação por PCR para o volume final de 50µL foram: 1 × tampão de PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 0,2 µM de cada *primer*, a partir de 5 ng de DNA genômico e 1,25 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, Brasil). Os ciclos de PCR estão descritos na tabela 5.

Tabela 4: *Primers* utilizados para PCR e sequenciamento nos marcadores moleculares UPA, *cox1* e *rbcL*.

Marcador (pb)	<i>primers</i>	Sequências 5'-3'	Referência
UPA (~400)	p23SrV_f1	GGACAGAAAGACCCTATGAA	Sherwood & Presting (2007)
	p23SrV_r1	TCAGCCTGTTATCCCTAGAG	
<i>cox1</i> (~700)	GWSFn	TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG	Le Gall & Saunders (2010)
	COX1R1	ATACATATGATGHGCTCAA	Saunders (2005)
<i>rbcL</i> (~1500)	F57	GTAATTCCATATGCTAAAATGGG	Freshwater & Rueness (1994)
	F753	GGAAGATATGTATGAAAGAGC	
	R753	GCTCTTTCATACATATCTTCC	
	R-rbcS Start	TGTGTTGCGGCCGCCCTTGTGTTAGTCTCAC	

Tabela 5. Etapas do ciclo de amplificação utilizado em PCR.

Marcador	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento 35 ciclos	Extensão	Extensão final	Referência
UPA	94°C por 2'	94°C por 20''	55°C por 30''	72°C por 30''	72°C por 10'	Sherwood & Presting (2007)
<i>cox1</i>	94°C por 1'	94°C por 1'	50°C por 1,5'	72°C por 1'	72°C por 5'	Saunders (2005)
<i>rbcL</i>	95°C por 4'	94°C por 1'	45°C por 1'	72°C por 1,5'	72°C por 10'	Lindstrom & Fredericq (2003)

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 0,7%, com marcador de tamanho (1 Kb DNA Ladder- Gibco BRL) para verificar os tamanhos dos fragmentos amplificados.

3.4.2 Purificação e quantificação do produto de PCR

Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit Gel Band Purification (GE Healthcare) de acordo com o protocolo do fornecedor. Logo em seguida as amostras foram quantificadas através de um novo gel, onde compararam-se a intensidade da banda/concentração de DNA amplificado e purificado com a banda do marcador “1Kb DNA ladder” (Invitrogen) seguindo as especificações do fabricante.

3.4.3 Sequenciamento de DNA

O sequenciamento dos marcadores moleculares a partir dos produtos de PCR purificado e quantificado foi realizado com o kit “Big-Dye™ Terminator Cycle Ready Reaction” (Applied Biosystems, Foster City, EUA) seguindo as instruções do fabricante, utilizando os mesmos *primers* da PCR descritos na Tabela 4. Para o gene *rbcL* foram utilizadas as seguintes combinações de *primers* F57 x R753 e F753 + RrbcS.

A reação de sequenciamento consiste em: 25 ciclos a 96°C por 10 seg. (desnaturação), 50°C por 15 seg. (anelamento) e 60°C por 2 min (extensão) (Saunders & McDevit, 2012). O produto foi precipitado em EDTA 125Mm, Acetato de Sódio 3M e etanol 100%, seguido de lavagem em etanol 70%, para a remoção dos resíduos não incorporados nas sequências. As amostras foram sequenciadas no sequenciador automático (ABI PRISM 3100).

3.4.4 Análises das sequências com proposta de “DNA barcoding”

As sequências consenso para cada marcador foram montadas manualmente usando o programa BioEdit a partir das sequências obtidas nas direções direta e reversa (Hall, 1999). Para todas as sequências foram removidas as regiões dos *primers*. Nucleotídeos divergentes ocorrendo na mesma posição foram confirmados nos cromatogramas das sequências. As sequências consenso obtidas foram comparadas com as sequências disponíveis no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), com o uso do programa BLAST (Altschul *et al.*, 1997).

3.4.4 Porcentagem de divergência

A análise das sequências do UPA e *cox1* foi feita pela construção de árvores de agrupamento com o algoritmo de Neighbor-Joining (NJ), com 2000 réplicas de Bootstrap, e modelo de substituição Kimura dois parâmetros (Kimura, 1980) e as divergências dos nucleotídeos foram calculadas sem modelo de correção, ambos implementados no programa MEGA 5.0 (Tamura *et al.*, 2007). Nas análises com o marcador *cox1*, além das sequências obtidas neste trabalho, foram utilizadas 16 sequências obtidas do GenBank (Tabela 6).

Tabela 6. Sequências de Gelidiales obtidas do GenBank para análises de agrupamento NJ com o marcador *cox1*.

Espécie	Número de acesso	Local	Referência
<i>Gelidium amansii</i> (J.V.Lamouroux) J.V.Lamouroux	KC782864	China	Zhao (2013)
<i>Gelidium coulteri</i> Harvey	HQ412471	EUA	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	HQ412458	EUA	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium foliaceum</i> (Okamura) E.M.Tronchin	HQ412456	África do Sul	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium pristoides</i> (Turner) Kützinger	HQ412453	África do Sul	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium purpurascens</i> N.L.Gardner	GQ497307	Canadá	Verbruggen <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium pusillum</i> (Stackhouse) Le Jolis	HQ412446	França	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium sclerophyllum</i> W.R.Taylor	KC288159	Costa Rica	Freshwater <i>et al.</i> (2012)
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G.Gmelin) P.C.Silva	HQ412450	Noruega	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Pterocladiaella australafricanensis</i> E.M.Tronchin & D.W.Freshwater (como <i>Pterocladiaella caerulescens</i>)	HQ412472	África do Sul	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Pterocladiaella bartlettii</i> (W.R.Taylor) Santelices	KC209084	Malásia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladiaella beachiae</i> Freshwater (como <i>Pterocladiaella caerulescens</i>)	HQ412477	Costa Rica	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Pterocladiaella caerulescens</i> (Kützinger) Santelices & Hommersand	HQ412475	EUA	Freshwater <i>et al.</i> (2010)
<i>Pterocladiaella megasporangia</i> J.Sohrabipour, P.-E.Lim & C.A.Maggs	KC209087	Malásia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladiaella phangiae</i> J.Sohrabipour, P.-E.Lim & C.A.Maggs	KC209090	Malásia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladiaella psammophila</i> Tronchin & Freshwater	HQ412486	África do Sul	Freshwater <i>et al.</i> (2010)

Foram calculadas as divergências intra- e interespecíficas para todos os marcadores utilizados. Espécies muito próximas foram analisadas mais detalhadamente através da verificação do “barcoding-gap”, que consiste na razão entre o valor da divergência interespecífica mínima (minINTER) e o valor de divergência intraespecífica máxima (máxINTRA) (Meier *et al.*, 2008; Freshwater *et al.*, 2010). Neste caso, a verificação do “barcoding-gap” foi feita relacionando quantas vezes a divergência interespecífica mínima é maior do que a divergência intraespecífica máxima entre duas espécies. Sendo assim, valor maiores que um (>1) mostram a distância entre máxINTRA e minINTER, enquanto que valores menores que 1 (<1) mostram que há sobreposição entre os dois fatores.

3.4.5 Análise filogenética

A análise filogenética foi realizada apenas com os marcadores *cox1+rbcL*, utilizando 24 sequências obtidas do GenBank (Tabela 7). Foram utilizadas duas sequências como grupo externo, *Lomentaria hakodatensis* Yendo (U04180), pertencente à ordem Rhodymeniales e *Gracilaria tenuistipita* C.F. Chang & B.M. Xia (AY049312), pertencente à ordem Gracilariales.

As sequências dos dois marcadores foram agrupadas usando o programa Sequence Matrix 1.7.9. Em seguida foi selecionado um modelo de evolução para as diferentes partições através do programa Partition Finder V1.1.1. Dois métodos diferentes foram usados para as análises: máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). A análise de ML foi feita no programa RAxML v.7.7.1 (Stamatakis, 2013). A Inferência Bayesiana (BI) foi realizada no programa MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), com duas corridas independentes, quatro cadeias de Markov, 4 milhões de gerações, com reamostragem a cada 100 gerações. As primeiras gerações que correspondem a um “burn-in” foram descartadas, finalizando com a construção de uma árvore consenso. Os “gaps” foram considerados como dados ausentes.

Tabela 7. Sequências obtidas do GenBank para análise concatenada com os marcadores *cox1* + *rbcL*.

Espécie	Número de acesso <i>cox1</i>	Número de acesso <i>rbcL</i>	Local	Referência
<i>Lomentaria hakodatensis</i> Yendo		U04180	EUA	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
<i>Gracilaria tenuistipitata</i> C.F.Chang & B.M.Xia		AY049312	EUA	Gurgel & Fredericq (2004)
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskål) Feldmann & Hamel	HM629886	HM629846	Filipinas	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidiella ligulata</i> E.Y. Dawson		AB017678	Japão	Shimada <i>et al.</i> (1999)
<i>Gelidiella fanii</i> S. –M.Lin	HM026521	HM026541		Wiriyadamrikul <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium capense</i> (S.G.Gmelin) P.C.Silva	HM629858	HM629818	África do Sul	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	KF381378	KF381387	Nova Zelândia	Wiriyadamrikul <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	HM629863	HM629823	Coreia do Sul	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium coulteri</i> Harvey	HM629862	HM629822	EUA	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium elegans</i> Kützinger	HM629867	HM629827	Coreia do Sul	Wiriyadamrikul <i>et al.</i> (2010)
<i>Gelidium floridanum</i> W.R.Taylor		AF305797	Costa Rica	
<i>Gelidium johnstonii</i> Setchell & N.L.Gardner	KF381376	L22458	Nova Zelândia	Freshwater & Rueness (1994)
<i>Gelidium microdenticum</i> W.R.Taylor		AF305799	Costa Rica	Thomas & Freshwater (2001)
<i>Gelidium pacificum</i> Okamura	HM629871	HM629831	Japão	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium pristoides</i> (Turner) Kützinger	HM629874	HM629834	África do Sul	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium purpurascens</i> N.L.Gardner	HM629873	HM629833	EUA	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium robustum</i> (N.L.Gardner) Hollenberg & I.A.Abbott	HM629876	HM629836	México	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium pusillum</i> (Stackhouse) Le Jolis	HM629872	HM629832	França	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G. Gmelin) P.C.Silva	HM629877	HM629837	Espanha	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Parviphycus albertanoae</i> A.Bottalico, G.H.Boo, C.Russo, S.M.Boo & C.Perrone (como <i>Parviphycus</i> sp.)	KC993797	KC993804	Itália	Bottalico <i>et al.</i> (2014)
<i>Parviphycus felcinii</i> C.Perrone & C.I.Delle Foglie	KC993801	KC993806	Itália	Bottalico <i>et al.</i> (2014)
<i>Pterocladia australafricanensis</i> Tronchin & Freshwater (= <i>P. caerulescens</i>)	HQ412472	EF190246	Moçambique	Tronchin & Freshwater (2007)
<i>Pterocladia bartlettii</i> (W.R.Taylor) Santelices	KC209084	KC209063	Malásia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladia beachiae</i> Freshwater		AF305811	Costa Rica	Thomas & Freshwater (2001)

<i>Pterocladia caerulea</i> (Kützinger) Santelices & Hommersand	KC209096	KC209072	Malasia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladia capillacea</i> (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	HM629885	HM629845	Coreia do Sul	Kim <i>et al.</i> (2011)
<i>Pterocladia megasporangia</i> J.Sohrabipour, P.-E.Lim & C.A.Maggs	KC209086	KC209066	Malasia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladia phangiae</i> J.Sohrabipour, P.-E.Lim & C.A.Maggs	KC209090	KC209078	Malasia	Sohrabipour <i>et al.</i> (2013)
<i>Pterocladia psammophila</i> Tronchon & Freshwater	HQ412483	EF190255	África do Sul	Freshwater <i>et al.</i> (2010)

3.4.6 Banco de dados

As informações geradas no presente trabalho foram integradas ao banco de dados de Rhodophyta (Rhodo SP) e os resultados foram disponibilizados em *website* na forma de prancha composta por fotografias do aspecto geral e detalhes anatômicos diagnósticos, sequências dos marcadores moleculares e distribuição geográfica do táxon no Brasil. Estas informações ficarão disponíveis no sistema BOLD (Barcode of Life Data Systems).

As sequências e amostras de DNA foram catalogadas, precipitadas em etanol e estocadas a -80°C formando um banco disponível para outros estudos (Chase *et al.*, 2005).

Os dados resultantes do projeto serão disponibilizados no sistema internacional BOLD SYSTEM (Barcode of Life Data Systems) e no GenBank.

3.5 Resumo das principais etapas da metodologia

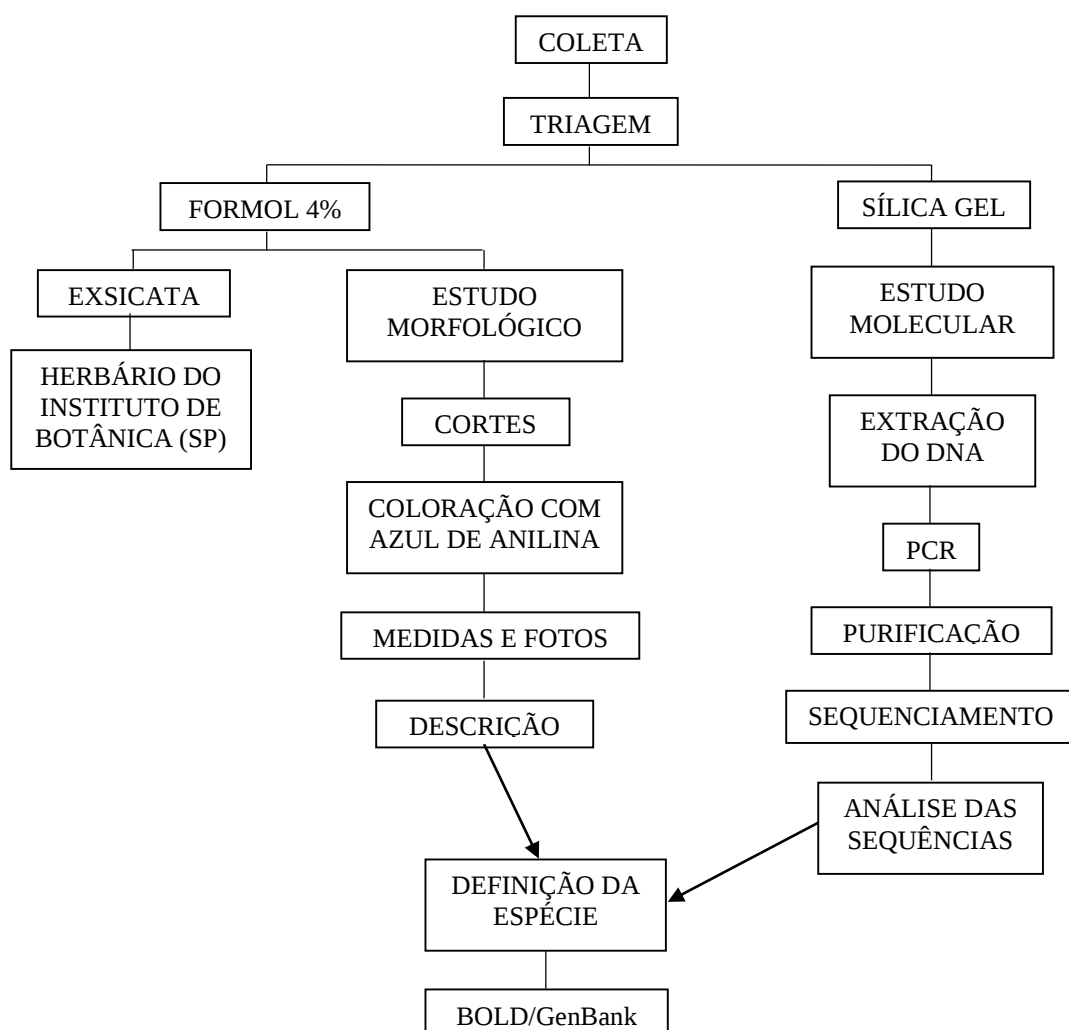


Figura 7. Fluxograma com as principais etapas realizadas ao longo do trabalho.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir de 124 amostras coletas em 11 Estados brasileiros, foram identificados 14 táxons de Gelidiales (Anexo 1): Gelidiellaceae: *Gelidiella acerosa*, *Gelidiella ligulata*, *Parviphycus trinitatensis* e *Parviphycus* sp.; Gelidiaceae: *Gelidium crinale*, *Gelidium floridanum*, *Gelidium microdenticum*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3 e *Gelidium* sp. 4; Pterocladaceae: *Pterocladella bartlettii*, *Pterocladella beachiae* e *Pterocladella* sp. (Tabela 8).

4.1 Sinopse dos táxons identificados

Filo Rhodophyta

Classe Florideophyceae

Ordem Gelidiales

Família Gelidiellaceae Fan

Gênero *Gelidiella* Feldmann & G. Hamel

Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & G. Hamel

Gelidiella ligulata E.Y. Dawson

Gênero *Parviphycus* Santelices

Parviphycus trinitatensis (W.R. Taylor) M.J.Wynne

Parviphycus sp.

Família Gelidiaceae Kützinger

Gênero *Gelidium* J. V. Lamouroux

Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon

Gelidium floridanum W.R. Taylor

Gelidium microdenticum W.R. Taylor

Gelidium sp. 1

Gelidium sp. 2

Gelidium sp. 3

Gelidium sp. 4

Família Pterocladaceae G. P. Felcini & C. Perrone

Gênero *Pterocladella* Santelices & Hommersand

Pterocladella bartlettii (W.R. Taylor) Santelices

Pterocladella beachiae Freshwater

Pterocladella sp.

Tabela 8. Quantidade de amostras por espécie coletadas em cada Estado.

Espécie	PI	CE	RN	PB	PE	AL	SE	BA	ES	SP	PR	Total
<i>Gelidiella acerosa</i>	-	3	3	1	1	2	-	7	-	-	-	17
<i>Gelidiella ligulata</i>	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	2
<i>Parviphycus trinitatensis</i>	-	1	3	1	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Parviphycus</i> sp.	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
<i>Gelidium crinale</i>	-	2	3	-	-	-	1	3	-	-	3	12
<i>Gelidium floridanum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2
<i>Gelidium microdenticum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
<i>Gelidium</i> sp. 1	3	3	3	-	1	-	-	4	-	-	-	14
<i>Gelidium</i> sp. 2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Gelidium</i> sp. 3	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2
<i>Gelidium</i> sp. 4	1	5	4	3	-	2	-	1	1	-	-	17
<i>Pterocladia bartlettii</i>	1	1	3	1	6	1	2	2	-	-	-	17
<i>Pterocladia beachiae</i>	-	5	5	3	4	1	-	11	-	-	-	29
<i>Pterocladia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Total	5	21	26	10	13	7	3	30	2	2	5	124

(-) representa ausência de amostra

4.1 Análises moleculares

A partir de 124 amostras, foram obtidas 172 sequências consenso dos três marcadores moleculares para os representantes de Gelidiales. A única espécie que não foi sequenciada com nenhum dos marcadores foi *Parviphycus* sp., pois as amostras dessa espécie foram encontradas misturadas com amostras em formol de outras espécies coletadas. Com o marcador UPA, foram sequenciadas 102 amostras que apresentaram boa qualidade nas sequências com 371 nucleotídeos; foram selecionadas amostras de cada espécie e de diferentes estados para serem sequenciadas com o marcador *cox1*, resultando em 54 sequências consenso de boa qualidade com 601 nucleotídeos; e apenas uma ou duas amostras de cada espécie foram selecionadas para serem sequenciadas com o marcador *rbcL*, resultando em 16 sequências com 1389 nucleotídeos.

De acordo com as análises de agrupamento de Neighbor-Joining utilizando os marcadores UPA e *cox1* foram revelados 13 agrupamentos bem definidos. Cada agrupamento representa uma única espécie, sendo cinco identificadas apenas em nível de gênero: *Gelidiella acerosa*, *Gelidiella ligulata*, *Parviphycus trinitatensis*, *Gelidium crinale*, *Gelidium floridanum*, *Gelidium microdenticum*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3, *Gelidium* sp. 4, *Pterocladia bartlettii*, *Pterocladia beachiae* e *Pterocladia* sp. As análises realizadas com os marcadores *cox1* e *rbcL* mostraram os mesmos agrupamentos dos clados obtidos com o marcador UPA, com exceção da espécie *Pterocladia* sp., que não foi possível sequenciar

com *cox1*, e *Gelidiella ligulata*, *Gelidium floridanum* e *Pterocliadiella bartlettii*, nas quais o sequenciamento com *rbcL* não funcionaram.

4.1.1 Marcador plastidial UPA

A árvore de UPA obtida por análise de agrupamento de Neighbor-Joining foi construída com base em uma matriz de 102 sequências consenso com 371 nucleotídeos, revelando 13 espécies de Gelidiales encontradas neste estudo. A figura 8 mostra uma árvore consenso de NJ para esse marcador plotada apenas com os valores de bootstrap maiores que 60.

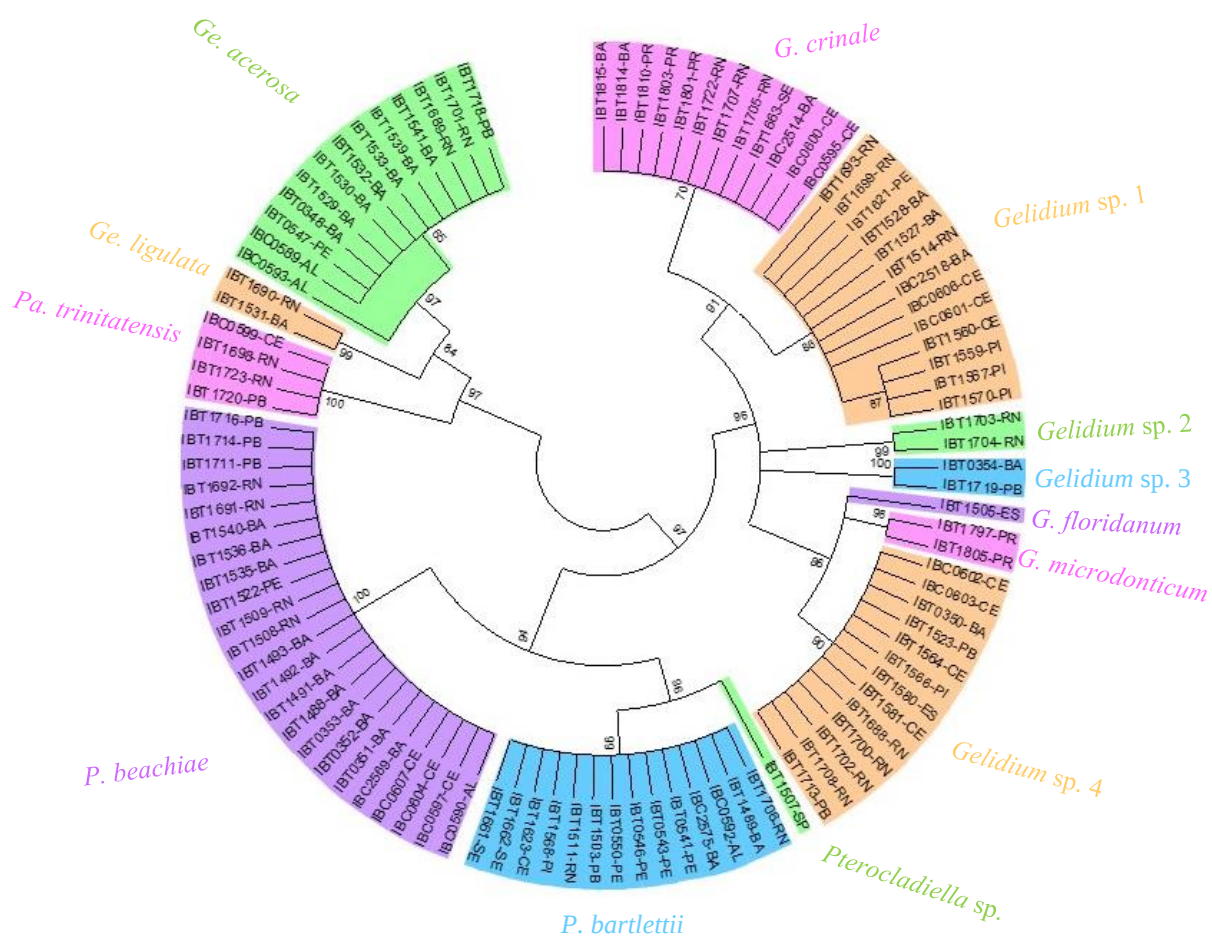


Figura 8. Análise de Neighbor-Joining para as sequências do marcador UPA.

Na árvore de UPA é possível observar a segregação das três famílias com alto suporte de Bootstrap. A variação intergenérica encontrada foi de 4,9 - 10,3% (18 - 38 nucleotídeos) (Tabela 9). A menor variação ocorreu entre os gêneros *Gelidiella* e *Parviphycus* e a maior variação foi entre os gêneros *Parviphycus* e *Pterocliadiella*.

Tabela 9. Valores de divergência intergenérica para o marcador UPA. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior. Valores mínimo e máximo destacados em negrito.

	<i>Gelidiella</i>	<i>Parviphycus</i>	<i>Gelidium</i>	<i>Pterocladia</i>
<i>Gelidiella</i>	-	18 - 20	19 - 24	23 - 28
<i>Parviphycus</i>	4,9 - 5,4%	-	27 - 29	29 - 38
<i>Gelidium</i>	5,1 - 6,5%	7,3 - 7,8%	-	19 - 30
<i>Pterocladia</i>	5,9 - 7,6%	7,8 - 10,3 %	5,4 - 6,5%	-

A família Gelidiaceae forma um agrupamento bem distinto dos outros, sendo representada por 19 amostras pertencentes às espécies *Gelidiella acerosa*, *Ge. ligulata* e *Parviphycus trinitatis*. A divergência intergenérica foi de 4,9 - 5,4% (18 - 20 nucleotídeos) entre *Gelidiella* e *Parviphycus* e a divergência interespecífica em *Gelidiella* foi de 1,6 - 1,9% (6 - 7 nucleotídeos) entre *Ge. acerosa* e *Ge. ligulata* (Tabela 10). Só foi encontrada divergência intraespecífica na espécie *Gelidiella acerosa*, com o valor de 0,3%, correspondente a um nucleotídeo de divergência.

Tabela 10. Valores de divergência intergenérica e interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Gelidiaceae. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

Gelidiaceae	<i>Gelidiella acerosa</i>	<i>Gelidiella ligulata</i>	<i>Parviphycus trinitatis</i>
<i>Gelidiella acerosa</i>	ID	6 - 7	19 - 20
<i>Gelidiella ligulata</i>	1,6 - 1,9%	ID	18
<i>Parviphycus trinitatis</i>	5,1 - 5,4%	4,9%	ID

A família Gelidiaceae foi a mais representativa no estudo, totalizando 45 amostras. Todos os representantes pertencem apenas ao gênero *Gelidium* que forma oito grupos: *G. crinale*, *G. floridanum*, *G. microdenticum* e quatro espécies identificadas apenas em nível de gênero: *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3 e *Gelidium* sp. 4. Foi encontrada divergência intraespecífica de 0,5% (2 nucleotídeos) apenas para a espécie *Gelidium* sp. 1, onde formou um grupo com amostras provenientes do Ceará a Bahia, e um outro grupo com amostras provenientes do Piauí e do norte do Ceará. A divergência interespecífica variou de 0,5 - 3,8% (2 - 14 nucleotídeos), sendo o menor valor entre as espécies *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1 e o maior valor encontrado, entre as espécies *G. microdenticum* e *Gelidium* sp. 1 (Tabela 11).

Tabela 11. Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Gelidiaceae. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior. Valores mínimo e máximo destacados em negrito.

Gelidiaceae	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>G. crinale</i>	ID	11	12	2 - 4	6	9	8
2. <i>G. floridanum</i>	3,0%	ID	7	11 - 13	13	11	5
3. <i>G. microdenticum</i>	3,2%	1,9%	ID	12 - 14	12	10	4
4. <i>Gelidium</i> sp. 1	0,5 - 1,1%	3,0 - 3,5%	3,2 - 3,8%	ID	8 - 10	9 - 11	10 - 12
5. <i>Gelidium</i> sp. 2	1,6%	3,5%	3,2%	2,2- 2,7%	ID	9	8
6. <i>Gelidium</i> sp. 3	2,4%	3,0%	2,7%	2,4 - 3,0%	2,4%	ID	8
7. <i>Gelidium</i> sp. 4	2,2%	1,4%	1,1%	2,7 - 3,2%	2,2%	2,2%	ID

Foram utilizadas 38 amostras que representam a família Pterocladiaceae. Essa família forma um grupo próximo da família Gelidiaceae. Foi encontrado apenas o gênero *Pterocladia*, dividido em três grupos: *P. bartlettii*, *P. beachiae* e uma espécie identificada apenas em nível de gênero, *Pterocladia* sp. A divergência interespecífica encontrada para a família variou de 1,4% (5 nucleotídeos) entre *P. bartlettii* e *Pterocladia* sp. e 5,4% (20 nucleotídeos) entre *P. bartlettii* e *P. beachiae* (Tabela 12). Foi encontrada divergência intraespecífica apenas na espécie *Pterocladia bartlettii*, com o valor de 0,3% de divergência (1 nucleotídeo).

Tabela 12. Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA nos representantes da família Pterocladiaceae. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior. Valores mínimo e máximo destacados em negrito.

Pterocladiaceae	<i>Pterocladia bartlettii</i>	<i>Pterocladia beachiae</i>	<i>Pterocladia</i> sp.
<i>Pterocladia bartlettii</i>	ID	19 - 20	5 - 6
<i>Pterocladia beachiae</i>	5,1 - 5,4%	ID	18
<i>Pterocladia</i> sp.	1,4 - 1,6%	4,9%	ID

Os valores de divergência encontrados com esse marcador estão próximos aos considerados por outros autores (Clarkston & Saunders, 2010; Milstein *et al.*, 2011; Iha, 2014). intraespecífica (até 0,5%) interespecífica (0,5 – 5,4%).

Iha (2014) utilizou os marcadores UPA e *cox1* para delimitar as espécies de Gelidiales da região sudeste brasileira, identificando 23 espécies. A divergência intraespecífica foi nula com UPA. A divergência interespecífica foi de 0,6 – 5,4%.

Os valores de divergências considerados para separar espécies podem variar para cada grupo de algas. Em outros representantes de Rhodophyta, como no caso de Kallymeniaceae (Gigartinales), Clarkston & Saunders (2010) encontraram divergência intraespecífica com UPA de 0 – 0,2% e entre as espécies de 0,8 – 6,2%. E para as espécies de *Porphyra* C. Agardh (Bangiales), a divergência interespecífica foi de 1,4 – 4,6% com UPA (Milstein *et al.*, 2011).

O marcador UPA apresentou maior sucesso de amplificação do material genético, entretanto a sobreposição dos valores intraespecíficos e interespecíficos encontrados poderiam subestimar a real riqueza de espécies. Esse marcador é considerado muito conservado, dificultando detectar uma divergência suficiente para separar espécies estreitamente relacionadas, característica crítica para fins de “DNA barcoding” (Clarkston & Saunders, 2010; Sherwood *et al.*, 2010b; Milstein *et al.*, 2011). Esse marcador, entretanto, foi útil para uma primeira triagem das espécies, em consonância com o observado por Iha (2014).

4.1.2 Marcador mitocondrial *cox1*

Para a árvore com o marcador *cox1* foi utilizada uma matriz com 70 sequências consenso, alinhadas com 601 nucleotídeos, sendo 54 sequências obtidas nesse trabalho e 16 sequências disponíveis no banco de dados GenBank (Tabela 6). A árvore de NJ para o marcador *cox1* revelou 25 espécies de Gelidiales, incluindo as espécies já identificadas com UPA, com exceção de *Pterocladia* sp., que não foi possível ser sequenciada (Figura 9).

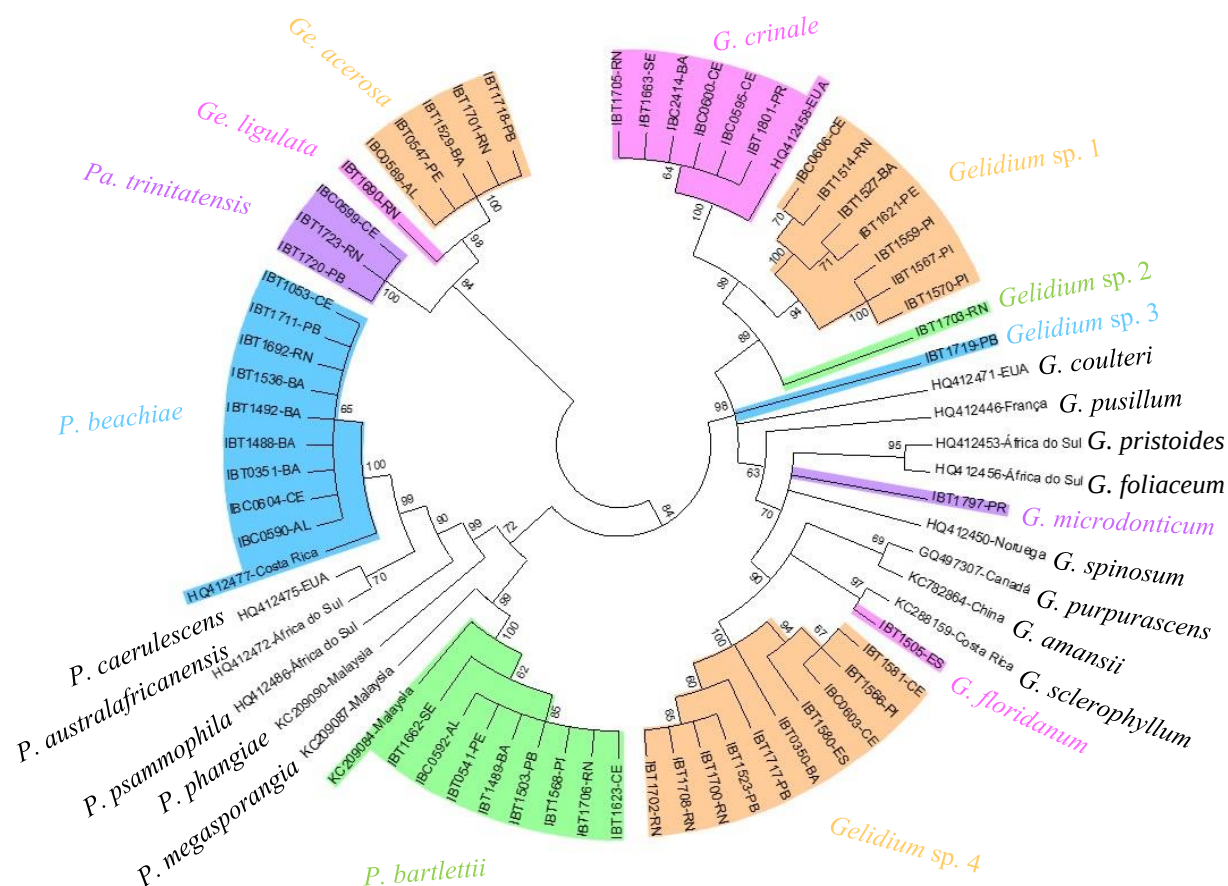


Figura 9. Árvore de NJ para as sequências com o marcador *cox1*. Estão representados nos ramos os valores de Bootstrap maiores que 60. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo número de acesso seguidas da localidade, cujas informações estão na tabela 6.

Assim como na árvore de NJ com o marcador UPA, pode-se observar a segregação das três famílias com altos valores de bootstrap e as famílias Gelidiaceae e Pterocladaceae formando grupos mais próximos. As divergências intergenéricas, interespecíficas e intraespecíficas foram calculadas utilizando apenas as amostras obtidas neste trabalho.

A variação intergenérica encontrada foi de 14,1% (94 nucleotídeos) entre os gêneros *Gelidium* e *Pterocladia*, e 19,3% (116 nucleotídeos) entre os gêneros *Gelidiella* e *Gelidium* (Tabela 13). Diferentemente do marcador UPA, onde a menor variação ocorreu entre os gêneros

que fazem parte da mesma família, *Gelidiella* e *Parviphycus* e a maior variação ocorreu entre *Parviphycus* e *Pterocladella*. A divergência interespecífica encontrada (apenas dentro dos gêneros) para o marcador *cox1* foi de 5,5 - 14,6% (33 - 88 nucleotídeos). O menor valor, foi encontrado entre as espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1 e o maior, entre *Gelidiella acerosa* e *Gelidiella ligulata*. A variação intraespecífica também se mostrou diferente nos dois marcadores. Em UPA, a variação foi de até 0,5% (2 nucleotídeos) e ocorreu em três espécies, *Gelidiella acerosa*, *Gelidium* sp. 1 e *Pterocladella bartlettii*, enquanto com o marcador *cox1* a variação foi de 0 - 3,5% (0 - 21 nucleotídeos) e ocorreu em quatro espécies, *G. crinale*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 4 e *Pterocladella bartlettii*.

Tabela 13. Valores de divergência intergenérica para o marcador *cox1*. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior. Valores mínimo e máximo destacados em negrito.

	<i>Gelidiella</i>	<i>Parviphycus</i>	<i>Gelidium</i>	<i>Pterocladella</i>
<i>Gelidiella</i>	-	97 - 102	97 - 116	104 - 114
<i>Parviphycus</i>	16,1 - 17,0%	-	89 - 105	94 - 97
<i>Gelidium</i>	16,1 - 19,3%	14,8 - 17,5%	-	85 - 104
<i>Pterocladella</i>	17,3 - 19,0%	15,6 - 16,1%	14,1 - 17,3%	-

Dentro da família Gelidiellaceae dois grupos se formaram, um com os representantes do gênero *Gelidiella*, composto pelas espécies *Ge. acerosa* com cinco amostras brasileiras e *Ge. ligulata* com apenas uma amostra, e outro grupo formado por três amostras pertencentes a espécie *Parviphycus trinitatis*. A divergência intergenérica encontrada foi de 16,1 - 17,0% (97 - 102 nucleotídeos) e a interespecífica em *Gelidiella* foi de 14,6% (88 nucleotídeos) entre *Ge. acerosa* e *Ge. ligulata* (Tabela 14). Não foi encontrada divergência intraespecífica em nenhuma das três espécies pertencentes a essa família.

Tabela 14. Valores de divergência intergenérica e interespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da família Gelidiellaceae. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

	<i>Ge. acerosa</i>	<i>Ge. ligulata</i>	<i>Pa. trinitatis</i>
<i>Ge. acerosa</i>	ID	88	97
<i>Ge. ligulata</i>	14,6%	ID	102
<i>Pa. trinitatis</i>	16,1%	17,0%	ID

A família Gelidiaceae também foi a mais representativa com o marcador *cox1*, com 27 sequências obtidas nesse trabalho e nove sequências obtidas do GenBank, totalizando 36 sequências, pertencentes a 15 espécies, todas de *Gelidium*. Observa-se a divergência

interespecífica de 5,5 - 14,5% (33 - 87 nucleotídeos), sendo a divergência mínima entre *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1 e a divergência máxima entre as espécies *G. crinale* e *Gelidium* sp. 4 (Tabela 15).

Tabela 15. Valores de divergência interespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da família Gelidiaceae. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior. Valores mínimo e máximo destacados em negrito.

	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>G. crinale</i>	ID	85 - 86	78 - 79	33 - 40	70 - 71	79 - 80	80 - 87
2. <i>G. floridanum</i>	14,1 - 14,3%	ID	60	72 - 76	77	74	34 - 40
3. <i>G. microdenticum</i>	13,0 - 13,1%	10,0%	ID	74 - 75	79	72	54 - 57
4. <i>Gelidium</i> sp. 1	5,5 - 6,7%	12,0 - 12,6%	12,3 - 12,5%	ID	61 - 63	71 - 78	71 - 78
5. <i>Gelidium</i> sp. 2	11,6 - 11,8%	12,8%	13,1%	10,1 - 10,5%	ID	76	79 - 83
6. <i>Gelidium</i> sp. 3	13,1 - 13,3%	12,3%	12,0%	11,8 - 13,0%	12,6%	ID	73 - 75
7. <i>Gelidium</i> sp. 4	13,3 - 14,5%	5,7 - 6,7%	9,0 - 9,5%	11,8 - 13,0%	13,1 - 13,8%	12,1 - 12,5%	ID

As sequências brasileiras de *Gelidium crinale* se agruparam com uma sequência da mesma espécie dos Estados Unidos, disponível no GenBank (HQ412458), com divergência de 0,3 - 0,5% (2 - 3 nucleotídeos), confirmando se tratarem de uma única entidade taxonômica. Foi encontrada divergência intraespecífica de 0 - 0,2% (0 - 1 nucleotídeo) nos espécimes brasileiros de *G. crinale* (Tabela 16) e é representado pelo espécime coletado no Paraná, sendo os outros coletados no nordeste brasileiro, podendo ser a distância das regiões a causa dessa divergência.

Tabela 16. Valores de divergência intraespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da espécie *Gelidium crinale*. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

<i>Gelidium crinale</i>	IBC0595 CE	IBC0600 CE	IBC2414 BA	IBT1663 SE	IBT1705 RN	IBT1801 PR
IBC0595 CE	ID	0	0	0	0	1
IBC0600 CE	0,0%	ID	0	0	0	1
IBC2414 BA	0,0%	0,0%	ID	0	0	1
IBT1663 SE	0,0%	0,0%	0,0%	ID	0	1
IBT1705 RN	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	ID	1
IBT1801 PR	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	ID

Gelidium sp. 1 formou um grupo independente, não formando agrupamento com nenhuma sequência de *cox1* disponível no banco de dados, mas próximo de *G. crinale*. *Gelidium* sp. 1 apresentou divergência intraespecífica de 0 - 3,5% (0 - 21 nucleotídeos) (Tabela 17). Essas duas espécies estão bastante relacionadas na árvore, variando apenas 5,5 - 6,7% (33 - 40 nucleotídeos). Próximo a esse grupo, pode-se encontrar *Gelidium* sp. 2, que também não agrupou com nenhuma espécie disponível no banco de dados.

Tabela 17. Valores de divergência intraespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da espécie *Gelidium* sp. 1. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

<i>Gelidium</i> sp. 1	IBC0606 CE	IBT1514 RN	IBT1527 BA	IBT1621 PE	IBT1559 PI	IBT1567 PI	IBT1570 PI
IBC0606 CE	ID	0	1	1	21	21	21
IBT1514 RN	0,0%	ID	1	1	21	21	21
IBT1527 BA	0,2%	0,2%	ID	0	20	20	20
IBT1621 PE	0,2%	0,2%	0,0%	ID	20	20	20
IBT1559 PI	3,5%	3,5%	3,3%	3,3%	ID	0	0
IBT1567 PI	3,5%	3,5%	3,3%	3,3%	0,0%	ID	0
IBT1570 PI	3,5%	3,5%	3,3%	3,3%	0,0%	0,0%	ID

As sequências de *Gelidium* sp. 3, obtida neste trabalho e as de *G. coulteri* dos Estados Unidos, e *G. pusillum* da França, disponíveis no banco de dados, não se agruparam com nenhuma espécie.

O último grupo de *Gelidium* é formado pelas sequências de *G. floridanum*, *G. microdenticum* e *Gelidium* sp. 4, obtidas neste trabalho e de *G. amansii*, *G. foliaceum*, *G. pristoides*, *G. purpurascens*, *G. sclerophyllum* e *G. spinosum*, obtidas do banco de dados, totalizando nove espécies. *Gelidium* sp. 4 apresentou divergência intraespecífica entre 0 - 1,2% (1 - 7 nucleotídeos) e não se agrupou com nenhuma das sequências disponíveis no GenBank (Tabela 18).

Tabela 18. Valores de divergência intraespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da espécie *Gelidium* sp. 4. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

<i>Gelidium</i> sp. 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.IBC0603 CE	ID	6	3	0	1	0	3	3	4	3
2.IBT0350 BA	1,0%	ID	5	6	7	6	5	5	6	5
3.IBT1523 PB	0,5%	0,8%	ID	3	4	3	0	0	1	0
4.IBT1566 PI	0,0%	1,0%	0,5%	ID	1	0	3	3	4	3
5.IBT1580 ES	0,2%	1,2%	0,7%	0,2%	ID	1	4	4	5	4
6.IBT1581 CE	0,0%	1,0%	0,5%	0,0%	0,2%	ID	3	3	4	3
7.IBT1700 RN	0,5%	0,8%	0,0%	0,5%	0,7%	0,5%	ID	0	1	0
8.IBT1702 RN	0,5%	0,8%	0,0%	0,5%	0,7%	0,5%	0,0%	ID	1	0
9.IBT1717 PB	0,7%	1,0%	0,2%	0,7%	0,8%	0,7%	0,2%	0,2%	ID	1
10.IBT1708 RN	0,5%	0,8%	0,0%	0,5%	0,7%	0,5%	0,0%	0,0%	0,2%	ID

A família Pterocladaceae foi representada por 18 sequências obtidas neste estudo e sete sequências disponíveis no GenBank, totalizando 25 sequências, que correspondem a sete espécies diferentes, todas pertencentes ao gênero *Pterocladella*. A divergência interespecífica encontrada entre *P. bartlettii* e *P. beachiae*, utilizando apenas as sequências deste trabalho, foi de 14,3 - 14,5% (86 - 87 nucleotídeos).

As nove sequências de *Pterocladella bartlettii* geradas neste trabalho agruparam com a sequência do espécime da Malásia (KC209084), com uma divergência de 0,5 - 0,7% (3 - 4 nucleotídeos), confirmando se tratarem da mesma espécie. As sequências geradas no trabalho apresentaram uma divergência intraespecífica de 0 - 0,5% (0 - 3 nucleotídeos) (Tabela 19).

Tabela 19. Valores de divergência intraespecífica para o marcador *cox1* nos representantes da espécie *Pterocladella bartlettii*. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

<i>P. bartlettii</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. IBC0592 AL	ID	0	1	0	0	0	0	2	0
2. IBT0541 PE	0,0%	ID	1	0	0	0	0	2	0
3. IBT0548 PE	0,2%	0,2%	ID	1	1	1	1	3	1
4. IBT1489 BA	0,0%	0,0%	0,2%	ID	0	0	0	2	0
5. IBT1503 PB	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	ID	0	0	2	0
6. IBT1568 PI	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	ID	0	2	0
7. IBT1623 CE	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	ID	2	0
8. IBT1662 SE	0,3%	0,3%	0,5%	0,3%	0,3%	0,3%	0,3%	ID	2
9. IBT1706 RN	0,0%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,3%	ID

Para *Pterocladella beachiae* também foram geradas nove sequências neste trabalho, que agruparam com uma sequência da Malásia, com divergência de apenas 0,2% (1 nucleotídeo), confirmando a identificação. Esta espécie é muito próxima de *P. caerulea* e *P. australafricana*, embora Freshwater *et al.* (2010) tenham mostrado através de estudos

moleculares que sejam espécies distintas. Não foi encontrada divergência intraespecífica dentro de *P. beachiae*.

A variação intraespecífica encontrada foi de 0 – 3,3% para *Gelidium crinale*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 4 e *P. bartlettii* com *cox1*. A divergência interespecífica nas espécies estudadas foi de 5,5 – 14,6%. Estes valores estão próximos aos considerados por outros autores para Gelidiales (Geraldino *et al.*, 2006; Clarkston & Saunders, 2010; Freshwater *et al.*, 2010; Kim & Boo, 2012; Milstein *et al.*, 2011; Iha, 2014).

No trabalho realizado por Iha (2014) com Gelidiales da região sudeste brasileira, a divergência intraespecífica encontrada com o marcador *cox1* foi de até 1,2% e a divergência interespecífica foi de 4,3 – 17,8%.

Kim & Boo (2012), utilizando o marcador *cox1*, consideraram valores intraespecíficos de até 2,75% para amostras de *Gelidium crinale* provenientes da Ásia, Austrália, Europa e América do Norte, valores similares aos obtidos por Freshwater *et al.* (2010) para a mesma espécie australiana, que foi de até 2,65%. Nesse trabalho, os autores consideraram os valores interespecíficos a partir de 4,22%.

Em outros representantes de Rhodophyta, como no caso de Kallymeniaceae (Gigartinales), Clarkston & Saunders (2010) encontraram divergência intraespecífica de até 0,9% e a partir de 4,5% para divergência interespecífica com *cox1*. Para *Hypnea flexicaulis* Yamagishi & Masuda, a divergência intraespecífica encontrada foi de 0 – 1,45% (Geraldino *et al.*, 2006). E para as espécies de *Porphyra* C. Agardh (Bangiales), a divergência interespecífica foi de 9,1-14,9% com *cox1* (Milstein *et al.*, 2011).

Le Gall & Saunders (2010) encontraram valores de divergência interespecíficos com *cox1* de 1,0 – 19,8%, em amostras canadenses de Phylloporaceae (Gigartinales, Rhodophyta), sendo os valores de 1,0 – 3,0% para diferenciar espécies intimamente relacionadas dentro dessa família. Esses valores estão na mesma ordem de grandeza daqueles publicados por Saunders (2005) para espécies estreitamente relacionadas de algas vermelhas.

Vários autores comentam a necessidade de combinar pares de *primers* para o sucesso de amplificação das sequências, dificultando estudos taxonômicos com diversos grupos de algas vermelhas (Saunders, 2009; Clarkston & Saunders, 2010; Sherwood *et al.*, 2010a; Milstein *et al.*, 2011). Neste trabalho, entretanto, obteve-se sucesso nas amplificações com todos os táxons usando apenas um par de *primers*, GWSFn x COX1R1.

4.1.3 Verificação do “Barcoding-gap”

A verificação do “barcoding-gap” é realizada em espécies muito próximas, para melhor delimitação de cada táxon, sendo que uma delas deve apresentar divergência intraespecífica, já que a divisão ocorre entre a divergência interespecífica mínima pela divergência intraespecífica máxima. Sendo assim, a comparação foi feita entre as espécies identificadas como *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1, apenas com os marcadores UPA e *cox1* (Tabela 20).

Utilizando o marcador UPA para estas duas espécies, a divergência interespecífica mínima encontrada foi de 0,5% e a divergência intraespecífica máxima encontrada foi de 0,5%, na espécie *Gelidium* sp. 1. Esse resultado mostra que houve sobreposição desses dois valores.

O valor de divergência interespecífico mínimo encontrado nestas duas espécies com o marcador *cox1*, foi de 5,5% e o valor máximo intraespecífico encontrado foi de 3,5% na espécie *Gelidium* sp. 1. A razão entre esses dois valores é de 1,57, significando que a divergência interespecífica mínima é 1,57 vezes maior do que a divergência intraespecífica máxima, ou seja, não houve sobreposição entre os valores de divergências, sendo esse valor suficiente para delimitar estas espécies quando comparado com outros trabalhos, como o realizado por Freshwater *et al.* (2010) que considerou o valor de “barcoding-gap” de 1,48 vezes para separar as espécies *Pterocladia caerulea* e *P. psammophila*.

Tabela 20. Divergências dos marcadores UPA e *cox1* e valor de barcoding-gap para as espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1. Divergência intraespecífica indicada em negrito, divergência interespecífica indicada abaixo da diagonal e verificação do “barcoding-gap” indicado acima da diagonal.

	<i>Gelidium crinale</i>		<i>Gelidium</i> sp. 1	
	UPA	<i>cox1</i>	UPA	<i>cox1</i>
<i>Gelidium crinale</i>	0%	0 - 0,2%	1x	1,57x
<i>Gelidium</i> sp. 1	0,5 - 1,1%	5,5 - 6,7%	0,5%	0 - 3,5%

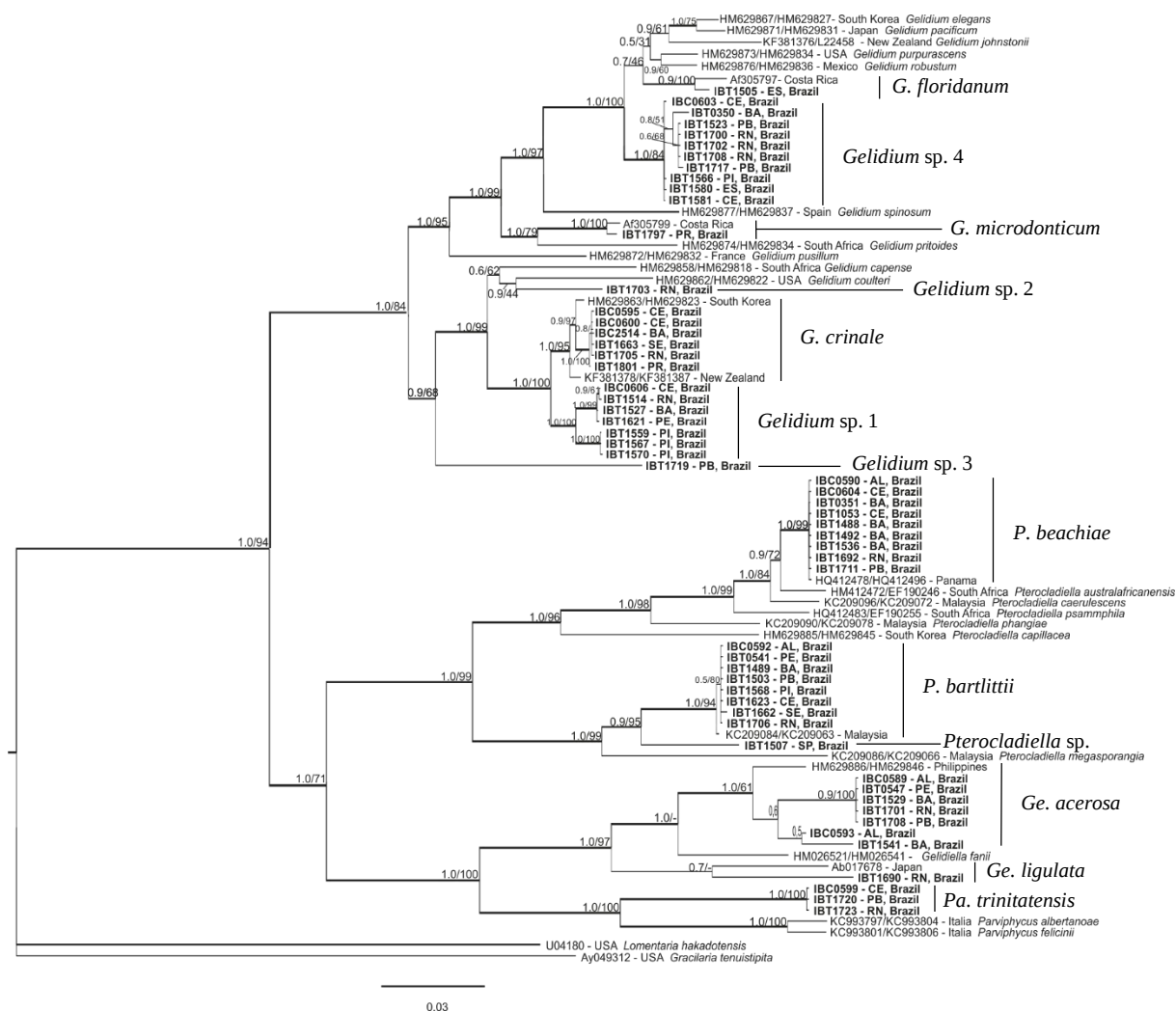
4.1.4 Análise filogenética com marcador *rbcL* e *cox1*

Figura 10. Árvore filogenética resultante da análise de inferência bayesiana (BI), com os valores de Bootstrap da máxima verossimilhança (ML) utilizando dados combinados do marcador *rbcL* e *cox1*. Nos ramos estão plotados os valores de probabilidade *a posteriori* maiores que 0,5 e de Bootstrap maiores que 50. As sequências em negrito foram obtidas neste trabalho. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo número de acesso seguidas da localidade, cujas informações constam da tabela 7.

A análise filogenética (Figura 10) apresentou as mesmas espécies brasileiras identificadas com o DNA barcoding. A maioria dos clados foram bem resolvidos, apresentando valores altos de suporte. A árvore filogenética mostra que a ordem Gelidiales é monofilética com alto suporte em relação aos grupos externos utilizados. Dois grandes grupos foram formados, o primeiro contendo amostras pertencentes a família Gelidiaceae, representada pelo gênero *Gelidium* e o segundo grupo com as famílias Gelidiellaceae, Pterocliadiaceae, representadas pelos gêneros *Gelidiella*, *Parviphycus* e *Pterocliadiella*.

A família Gelidiaceae, com apenas o gênero *Gelidium*, apresentou-se monofilética. Suas espécies brasileiras, *Gelidium crinale*, *G. floridanum* e *G. microdenticum* estão bem resolvidas, entretanto ainda há 04 espécies que foram identificadas a nível de gênero que podem se tratar de espécies novas ou serem espécies que ainda não possuem sequências no banco de dados, nem puderam ser identificadas pela morfologia. A espécie *Gelidium* sp. 1 mostra-se como espécie irmã de *G. crinale*, entretanto elas formam clados distintos bem suportados.

Neste clado, as amostras obtidas neste trabalho pertencentes a *G. microdenticum* agruparam com a sequência disponível no banco de dados da mesma espécie proveniente da Costa Rica (AF305799), com divergência de 0,6% (8 nucleotídeos), confirmando pertencerem a mesma espécie.

Gelidium sp. 2 forma um clado junto com *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale*, entretanto essa espécie não agrupou com nenhuma sequência disponível no banco de dados. As espécies *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale* mostraram-se intimamente relacionadas. Porém, elas se diferenciam com uma divergência de 0,9 - 1,1% (12 – 15 nucleotídeos). As amostras identificadas como *G. crinale* se agrupam com as sequências da Coreia do Sul (HM629863/HM629823) e da Nova Zelândia (HM381378/KF381387) com divergências do *rbcL* de apenas 0,2% (3 nucleotídeos), confirmando se tratarem da mesma espécie.

A família Pterocladaceae também se apresentou monofilética. Dentro do clado do gênero *Pterocladella*, a espécie identificada apenas como *Pterocladella* sp. não agrupou com nenhuma das sequências analisadas, disponíveis no GenBank. A divergência entre *Pterocladella* sp. com a espécie *P. bartlettii* foi de 4,6% (64 nucleotídeos), com *rbcL*, confirmando que são espécies distintas. *Pterocladella bartlettii* agrupou com uma sequência da Malásia (KC209084/KC209063), assim como *P. beachiae* agrupou com uma sequência do Panamá (HQ412478/HQ412496), confirmando suas identificações taxonômicas.

A família Gelidiellaceae, representada pelos gêneros *Gelidiella* e *Parviphycus*, também foi bem resolvida num clado monofilético, apresentando as espécies *Gelidiella acerosa*, *Ge. ligulata*, e *Parviphycus trinitatis*. Dentro desse clado, pode-se observar as espécies de *Parviphycus* formando um clado e de *Gelidiella* formando outro. A espécie *Pa. trinitatis* obtida neste trabalho não agrupou com nenhuma sequência presente no banco de dados, apenas se mostrou como grupo irmão das outras espécies pertencentes ao mesmo gênero. A identificação de *Ge. acerosa* obtida neste trabalho foi confirmada em comparação à sequência da mesma espécie proveniente da Filipinas (HM629886/HM629846).

A análise concatenada mostrou-se com altos valores de suporte para abordagem das relações filogenéticas do grupo. Entretanto, o sucesso de amplificação do marcador *rbcL* foi menor do que com o UPA e *cox1*, sendo necessário repetir mais vezes as reações de PCR para

obter a sequência completa. A topologia da árvore obtida nesta análise é semelhante às encontradas por outros autores que estudaram Gelidiales anteriormente (Freshwater *et al.*, 1995; Shimada *et al.*, 1999; Thomas & Freshwater, 2001; Millar & Freshwater, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Tronchin & Freshwater, 2007; Iha, 2014).

A variação interespecífica observada para o marcador *rbcL* de 0,9 – 4,9% (12 – 68 nucleotídeos) neste trabalho é próxima aos valores considerados por Boo *et al.* (2013), que foram de 1 – 2% para diferenciar espécies irmãs pertencentes ao gênero *Gelidium*, assim como por Iha (2014), que foi de 0,9% para diferenciar espécies relacionadas do mesmo gênero.

4.2 Análise morfológica

4.2.1 Chave artificial dicotômica para identificação de Família

- 1a. Presença de rizines. Estrutura de fixação por apressório formado por filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão 2
- 1b. Ausência de rizines. Estrutura de fixação por filamentos rizoidais independentes originados de células corticais externas do estolão Gelidiellaceae
- 2a. Apressório do tipo “brush-like”. Cistocarpo bilocular, com dois ostíolos, um de cada lado da fronde Gelidiaceae
- 2b. Apressório do tipo “peg-like”. Cistocarpo unilocular, com um ou dois ostíolos no mesmo lado da fronde Pterocladiaceae

4.2.2 Descrições dos táxons estudados

Família Gelidiellaceae Fan

Gênero tipo: *Gelidiella* Feldmann & Hamel (1934)

Chave artificial dicotômica para identificação dos táxons estudados de Gelidiellaceae.

- 1a. Corte transversal mediano do talo com uma a três camadas de células medulares formando uma linha reta 2
- 1b. Corte transversal mediano do talo com mais de três camadas de células medulares distribuídas irregularmente 3
- 2a. Presença de ramificação, esparsa e irregular *Parviphycus trinitatensis*
- 2b. Ausência de ramificação ou muito raramente encontrada *Parviphycus* sp.
- 3a. Ramos cilíndricos rígidos com ramificação pinada regular *Gelidiella acerosa*
- 3b. Ramos foliáceos delicados com nervura longitudinal evidente, ausência de ramificação ...
..... *Gelidiella ligulata*

Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel, Revue Gen. Bot. 46: 533. 1934.

Basiônimo: *Fucus acerosus* Forsskål

Localidade tipo: Mocha (Al Mukha), Yemen.

Holótipo: Herbário do Museu de Botânica da Universidade de Copenhague

Figuras 11 – 19

Talo formando tufos, cartilaginoso, rígido, vermelho vináceo escuro a enegrecido, medindo até 9,5 cm de altura, fixo ao substrato por filamentos rizoidais independentes produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação pinada oposta de até segunda ordem, raramente verticilada. Base dos ramos laterais não constritas. Ápices dos ramos obtusos, com célula apical proeminente, porém nem sempre fácil de ser visualizada. Filamentos rizoidais independentes, produzidos a partir de células corticais externas do estolão. Estolões cilíndricos, 459-464 µm de diâmetro, formados por medula com muitas camadas de células circundada por duas a três camadas de células corticais. Ramos eretos cilíndricos, 622-727 µm de diâmetro. Em corte transversal na região mediana do eixo principal, medula com muitas camadas de células, densamente dispostas, envolvida por cinco a sete camadas de células corticais. Células corticais externas radialmente elípticas, 8-12 µm de altura e 3-4 µm de largura, formando de uma a duas camadas. Células corticais internas cilíndricas, com 5-7 µm de diâmetro formando de quatro a cinco camadas. Células medulares com parede celular espessa, arredondadas, 10-31 µm de diâmetro. Ausência de rizines. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções apicais dos últimos râmulos e ausência de margem estéril. Tetrasporângios acropetamente desenvolvidos e irregularmente distribuídos no talo. Tetrasporângios maduros ovoides tetraedricamente divididos, com 22-43 µm de largura e 40-63 µm de comprimento. Não foram observadas plantas gametofíticas.

Material Examinado

Brasil. Ceará: Camocim, Praia do Farol, 24.VI.2013, M. T. Fujii e D. Milstein (SP469041); Paracuru, Praia de Mungiba, 24.IV.2013, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469042). Rio Grande do Norte: São Miguel do Gostoso, Praia do Carneiro, 29.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469043), Praia de Tourinhos, 29.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469044); Maxaranguape, Praia Rio do Fogo, 30.III.2014 (SP469045). Paraíba: Conde, Praia de Carapibus, 01.IV.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469046). Pernambuco: Cabo, Enseada dos Corais, 27.IX.2011, S. M. P. B. Guimarães

(SP469047). Alagoas: Marechal Deodoro, Praia do Francês, 10.III.2013, C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto (SP469048). Bahia: Camaçari, Praia de Jauá, 23.V.2013, M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469049); Itaparica, Praia da Penha, 29.IV.2010, S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya (SP469050), Praia da Coroa, 24.V.2013, M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469051).

Distribuição para o Brasil

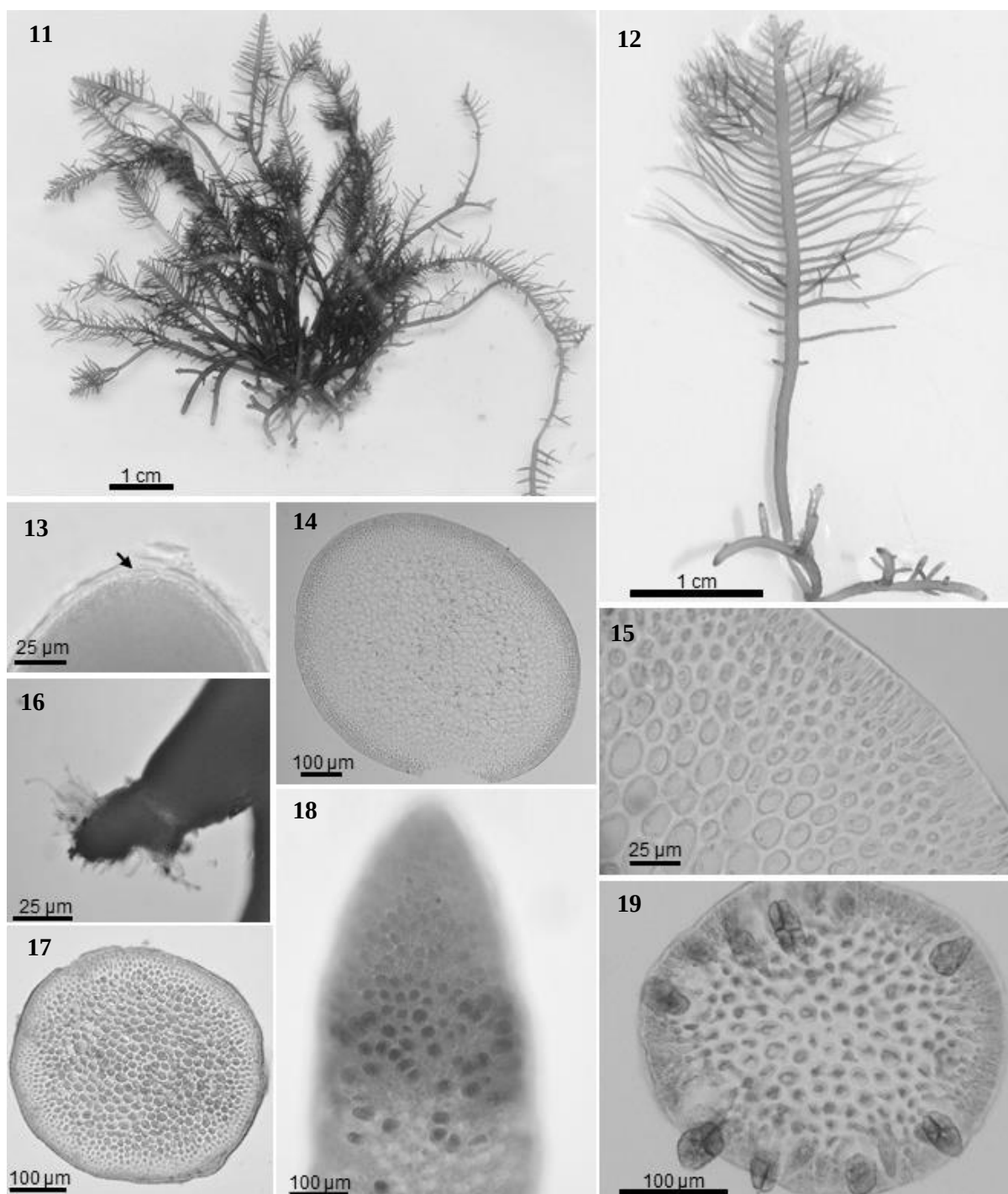
Ceará (Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Rio Grande do Norte (Oliveira *et al.*, 2002; Silva, 2010; Guimarães, 2015), Paraíba (Oliveira *et al.*, 2002; Araujo *et al.*, 2008; Guimarães, 2015), Pernambuco (Oliveira *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Alagoas (Oliveira *et al.*, 2002), Bahia (Oliveira *et al.*, 2002; Nunes, 2005; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Fernandes & Guimarães, 1998; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Yoneshigue, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Brasileiro *et al.*, 2009; Guimarães, 2015), Atol das Rocas (Oliveira Filho & Ugadim, 1976; Oliveira *et al.*, 2002).

Comentários

As plantas encontradas neste trabalho concordam com as descritas por outros autores (Fernandes & Guimarães, 1996; Milla & Freshwater, 2005). Esta é uma das espécies mais comuns nos ambientes tropicais e mais fáceis de serem identificadas, devido ao aspecto geral e por ocorrer na faixa superior da região entremarés, sujeita à dessecação por longo período durante as marés baixas. Possui talo cartilaginoso rígido, coloração vermelho enegrecido, ramificação pinada regular, talo cilíndrico e composto por muitas camadas de células medulares.

Gelidiella acerosa foi encontrada principalmente em ambientes recifais, formando densas populações. A espécie apresenta ampla distribuição no nordeste estendendo-se até o Rio de Janeiro.

Nos países asiáticos, a espécie possui grande importância econômica, sendo uma das preferidas como fonte de alimento e de ágar (Roleda *et al.*, 1997).



Figuras 11 – 19. *Gelidiella acerosa*. 11 – Hábito. 12 – Detalhe do ramo. 13 – Detalhe da porção apical com célula apical pouco evidente (seta). 14 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo. 15 – Detalhe do corte, mostrando a transição do córtex para a medula, sendo as células corticais externas elípticas e radialmente dispostas. 16 – Estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes. 17 – Corte transversal do ramo estolonífero. 18 – Detalhe do ramo tetrasporangial, com formação dos tetrasporângios acropetalmente. 19 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângios tetraedricamente divididos localizados na região cortical do talo, não apresentando margem estéril.

Gelidiella ligulata Dawson, Allan Hancock Pacific Expeditions 17: 83, 1953.

Localidade tipo: Cabeza Ballena, Baja California, México.

Holótipo: (LAM500227) Herbário da Universidade da Califórnia (ex Museu de Los Angeles [LAM])

Figuras 20 – 26

Talo isolado ou em pequenos tufo, delicados, vermelho vináceo claro, medindo até 6,0 cm de altura, fixo ao substrato por filamentos rizoidais independentes produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos sem ramificação ou com pouca ramificação irregular na porção basal. Talos foliáceos, com região mediana mais espessa, formando uma espécie de nervura longitudinal ao longo do talo. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices dos ramos obtusos, com célula apical pouco diferenciada das demais. Filamentos rizoidais independentes, originados de células corticais externas do estolão. Estolões cilíndricos, 280 µm de diâmetro, formados por medula com várias camadas de células circundada por três camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical externa elípticas, células medulares arredondadas a levemente elípticas. Ramos eretos cilíndricos a compressos na base, com 244-268 µm de espessura e 295-308 µm de largura, tornando-se achatados, com 195 µm de espessura e 1616 µm de largura, podendo afinar novamente no sentido apical. Em corte transversal na região mediana, eixo principal formado por 13 ou mais camadas de células na região medular e por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa arredondadas, 5-7 µm de diâmetro. Células medulares arredondadas a elípticas, 11-12 µm de espessura e 15-18 µm de largura. Ausência de rizines. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Rio Grande do Norte: São Miguel do Gostoso, Praia do Cardeiro, 29.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469052). Bahia: Camaçari, Praia de Jauá, 23.V.2013, col. M. Jamas, B. Torrano-Silva, C. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469053).

Distribuição para o Brasil

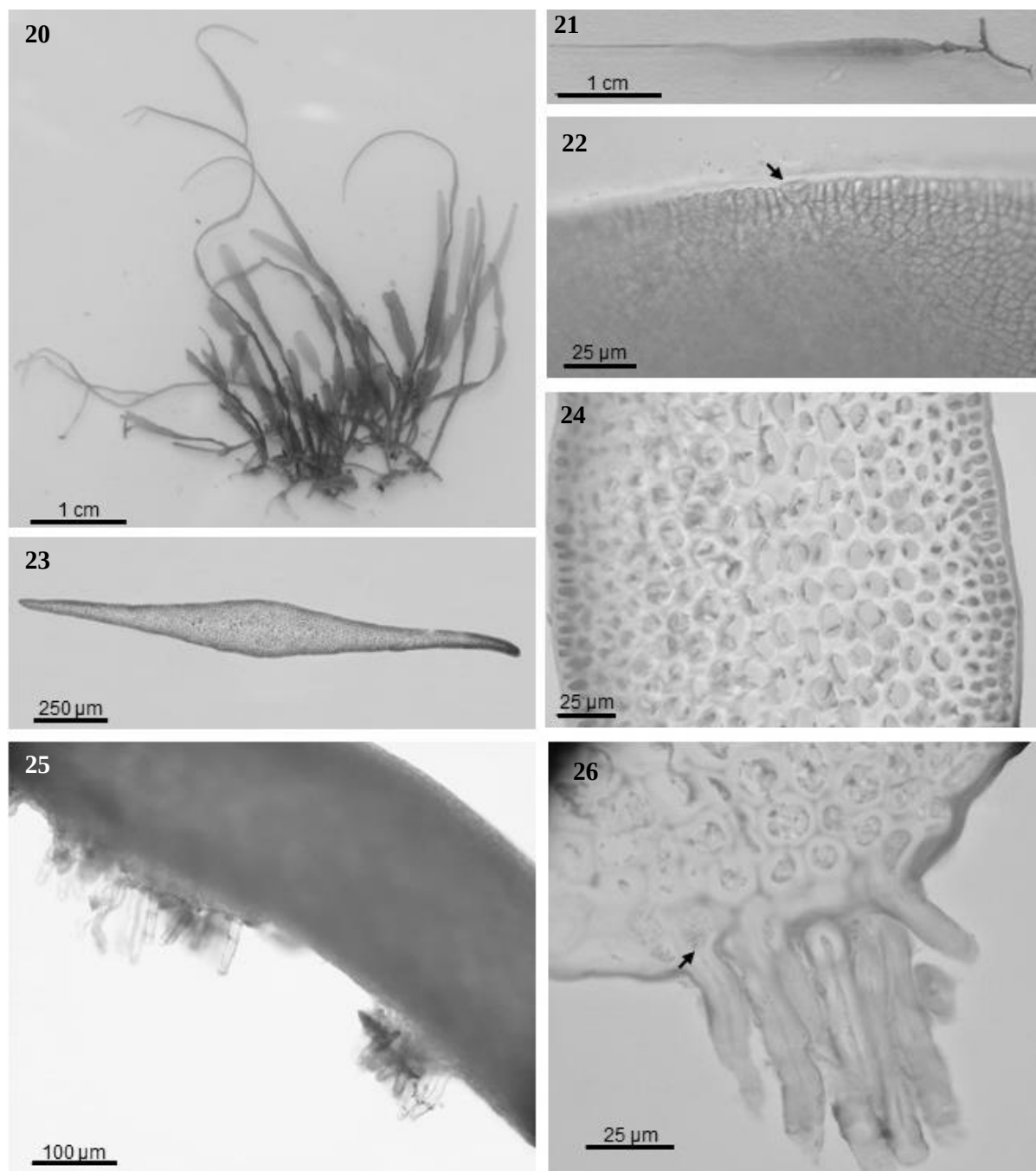
Rio Grande do Norte (Silva, 2010; Guimarães, 2015), Bahia (Nunes, 2005; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Fernandes & Guimarães, 1998; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Iha, 2014), São Paulo (Iha, 2014; Guimarães, 2015).

Comentários

Gelidiella ligulata foi descrita por Dawson (1953) com base em espécimes do Pacífico mexicano. A primeira citação para o Oceano Atlântico foi feita por Fernandes & Guimarães (1998) para espécimes coletados no Espírito Santo, Brasil.

O material coletado concorda com as plantas descritas por Fernandes & Guimarães (1998), Shimada & Masuda (1999) e Iha (2014). Estes autores também não encontraram plantas férteis, como neste estudo.

Neste trabalho, as amostras foram coletadas na região entremarés em poças e regiões protegidas. A espécie não é encontrada com frequência, mas é de fácil identificação devido às características da fronde de forma foliácea com a região mediana apresentando-se espessa, assemelhando-se à nervura em vista superficial.



Figuras 20 – 26. *Gelidiella ligulata*. 20 – Hábito. 21 – Detalhe de um ramo desenvolvido a partir da porção estolonífera cilíndrica, que se torna foliáceo, alargado na porção basal e afilado acima. 22 – Célula apical (seta) pouco diferenciada das demais, não formando protuberância. 23 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo. 24 – Detalhe do corte transversal, mostrando a transição do córtex para a medula. 25 – Estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes unicelulares. 26 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal dos filamentos, mostrando a formação dos filamentos rizoidais a partir da célula cortical externa (seta).

Parviphyicus trinitatensis (W.R. Taylor) M.J. Wynne, Feddes Repertorium 121: 161, 2010.

Basiônimo: *Gelidiella trinitatensis* W.R. Taylor

Localidade tipo: Manzanilla Point, Trinidad

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan (MICH)

Figuras 27 – 36

Talo em tufos, cartilaginoso, vermelho escuro, delicado, medindo até 1,3 cm de altura, aderido ao substrato por filamentos rizoidais independentes produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação esparsa e irregular. Base dos ramos laterais constrita. Ápices dos ramos agudos com célula apical proeminente, com padrão de divisão dística das células subapicais, resultando em um filamento axial visível à distancias mais longas abaixo do ápice. Filamentos rizoidais independentes originados a partir das células corticais externas do estolão. Estolões cilíndricos, 85-102 µm de diâmetro, formados por três a quatro fileiras de células medulares circundada por duas camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, células medulares com parede espessa, arredondadas. Ramos eretos cilíndricos na base e compressos próximo aos ápices, 78-87 µm de espessura e 108-142 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula formada por três fileiras de células, com célula axial e periaxiais bem evidentes, formando uma fileira, envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa, arredondadas a quadráticas, 5-8 µm de diâmetro. Células medulares arredondadas, 8-12 µm de diâmetro. Ausência de rizines. Tetrasporângios desenvolvendo-se nas partes terminais dos ramos, formando estiquídios do tipo-panosa, tetrasporângios arranjados paralelamente, formando a letra V aberta. Tetrasporângios divididos tetraedricamente com 27-29 µm de diâmetro. Não foram observadas plantas gametofíticas.

Material Examinado

Brasil. Ceará: Paracuru, Praia da Munguba, 24.IV.2013, col. B. Torrano-Silva, C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto (SP469054). Rio Grande do Norte: São Miguel do Gostoso, Praia de Tourinhos, 29.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469055); Maracajaú, Praia Ponta dos Anéis, 04.X.2009, I. B. Silva (SP469056); Natal, Praia do Meio, 02.IV.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469057). Paraíba: Conde, Praia de Carapibus, 01.IV.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469058).

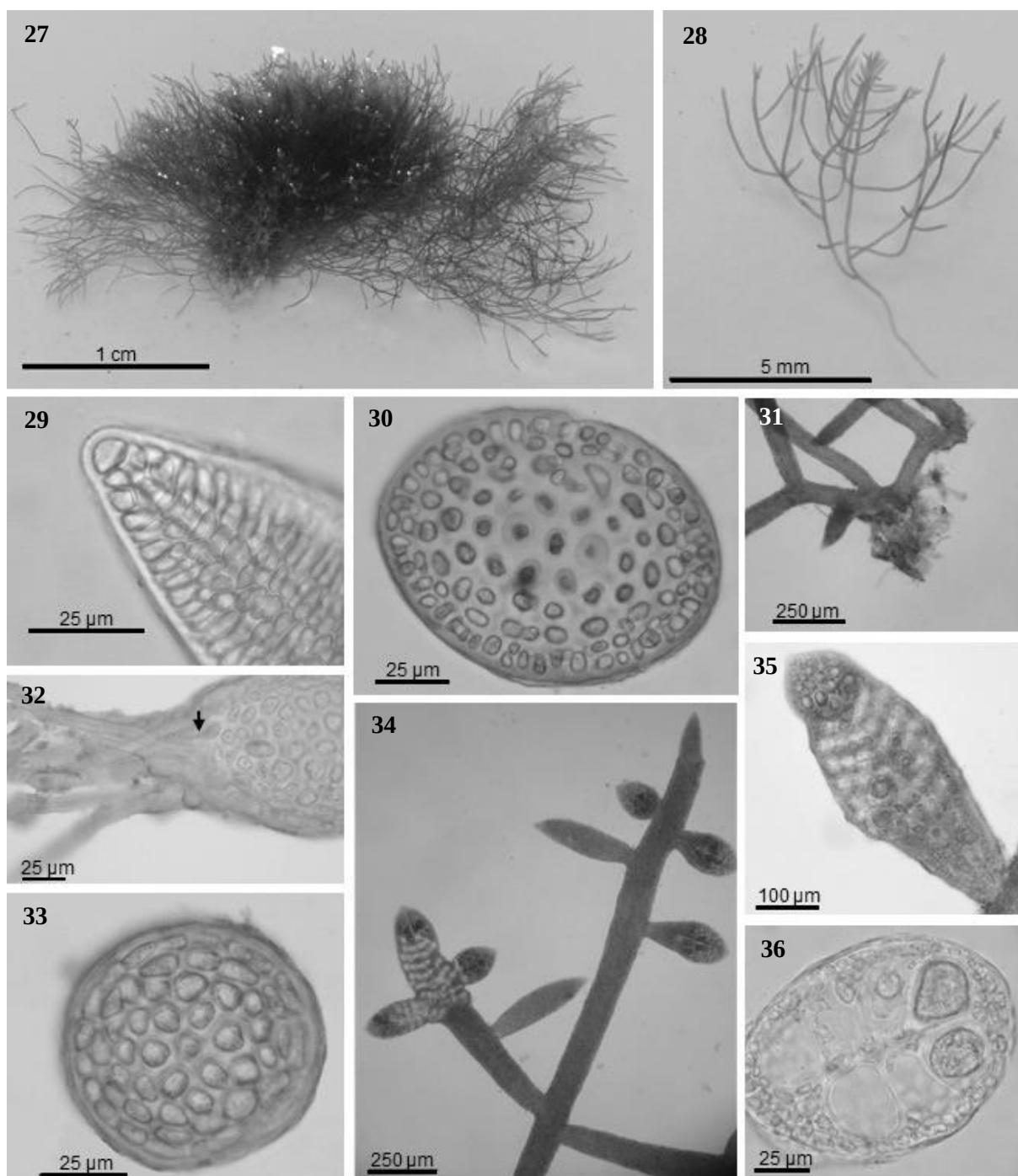
Distribuição para o Brasil

Ceará (Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Rio Grande do Norte (Silva, 2010; Guimarães, 2015), Bahia (Nunes, 2005; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Oliveira *et al.*, 2002; Brasileiro *et al.*, 2009; Guimarães, 2015), São Paulo (Joly, 1957, 1965; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Santa Catarina (Guimarães, 2015).

Comentários

Parviphycus trinitatensis foi estabelecido por Taylor (1943) como *Gelidiella trinitatensis*, para plantas de Trinidad de tamanho pequeno, com tetrasporângios arranjados em V e os ramos férteis tipo estiquídios. Wynne (2010) analisou o holótipo e com base nas características do estiquídio e do padrão de divisão apical transferiu a espécie para o gênero *Parviphycus*.

Os espécimes encontrados nesse trabalho concordam com a descrição de Wynne (2010). Pode ser diferenciada das outras espécies devido ao seu tamanho diminuto, padrão de ramificação esparso e irregular e pela ausência de rizines. As amostras foram coletadas em regiões entremarés, em áreas protegidas, poças ou fendas, escondidas embaixo de algas maiores, formando densos tufos.



Figuras 27 – 36. *Parviphycus trinitatensis*. 27 – Hábito. 28 – Detalhe do ramo. 29 – Ápice agudo com célula apical proeminente. 30 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo, mostrando fileira de células medulares. 31 – Estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes. 32 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal dos filamentos, mostrando a formação dos filamentos rizoidais a partir da célula cortical externa (seta). 33 – Corte transversal do estolão. 34 – Ramo tetrasporangial. 35 – Detalhe do ramo tetrasporangial formando fileiras em forma da letra V aberta. 36 – Corte transversal do ramo tetrasporangial.

Parviphycus sp.

Figuras 37 – 43

Talo em tufos, cartilaginoso, vermelho escuro, delicado, medindo até 1,0 cm de altura, aderido ao substrato por filamentos rizoidais independentes que crescem a partir das células corticais externas ao longo de todo estolão. Eixos eretos simples, ou raramente ramificado. Ápices dos ramos agudos com célula apical proeminente, com padrão de divisão dística das células subapicais, resultando em um filamento axial visível a distâncias mais longas abaixo do ápice. Filamentos rizoidais independentes, formados a partir de células corticais externas. Estolões são cilíndricos, 81-120 µm de diâmetro, formados por três a quatro fileiras de células medulares circundada por três camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, células medulares com parede espessa, circulares. Ramos eretos cilíndricos na base e compressos próximo aos ápices, 49-65 µm de espessura e 76-101 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do eixo principal, medula formada por uma a três fileiras de células, com célula axial e periaxiais bem evidentes, formando uma fileira, envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa, circulares a quadráticas, 4-7 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 6-10 µm de diâmetro. Ausência de rizines. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Ceará: Paracuru, Praia da Munguba, 24.IV.2013, col. B. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto (SP469059). Pernambuco: Ipojuca, Praia de Porto de Galinhas, 02.IX.2013, col. S. M. P. B. Guimarães (SP469060).

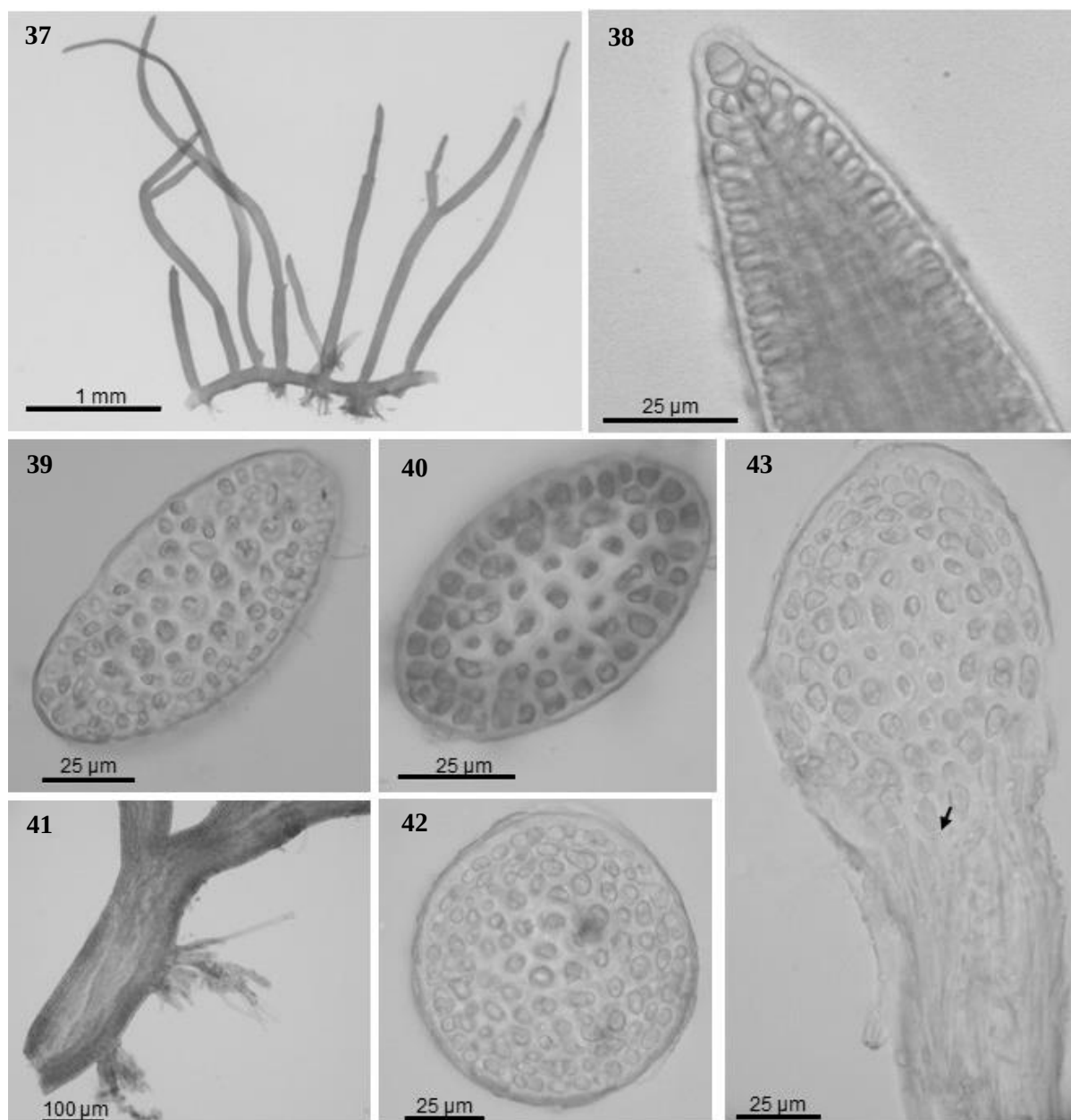
Comentários

Os espécimes foram obtidos misturados com outras espécies em formol, a partir de uma triagem mais detalhada em laboratório. Os espécimes apresentam estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes, originados de células corticais externas e não apresentam rizines ao longo do talo, características que pertencem a família Gelidiellaceae (Fan, 1961; Perrone *et al.*, 2006). Além dessas características também apresenta célula axial e periaxiais bem evidentes, formando uma linha, em corte transversal do talo e padrão de divisão dística das células subapicais, que são características morfológicas pertencentes a representantes do gênero *Parviphycus* (Santelices, 2004).

Para o Brasil, foram citadas três espécies pertencentes ao gênero *Parviphycus*, *Pa. trinitatensis*, *Pa. pannosus* (Joly, 1965; Brasileiro *et al.*, 2009) e *Pa. setaceus* (Oliveira Filho & Ugadim, 1976).

Essa espécie se diferencia de *Pa. trinitatensis*, pela ausência de ramificação. Os representantes pertencentes a espécie *Pa. pannosus* apresentam talos com até 0,2 cm e ramos eretos cilíndricos, características diferentes do material coletado nesse trabalho, que apresentam altura até 1 cm e ramos eretos compressos. Os espécimes estudados se diferenciam da espécie *Pa. setaceus* por apresentarem altura menor do que descrito para *Pa. setaceus*, que é de até 3 cm, também apresentam menor número de camadas medulares, sendo os espécimes desse trabalho têm até três camadas e *Pa. setaceus* tem até cinco camadas de células medulares.

Portanto devido à ausência de plantas férteis, e a dificuldade na identificação apenas por caracteres morfológicos, decidiu-se deixar essa espécie identificada apenas a nível de gênero.



Figuras 37 – 43. *Parviphyucus* sp.. 37 – Hábito. 38 – Célula apical proeminente. 39 e 40 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo, mostrando fileira de células medulares. 41 – Estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes. 42 – Corte transversal do estolão. 43 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal dos filamentos, mostrando a formação dos filamentos rizoidais a partir da célula cortical externa (seta).

Família Gelidiaceae Kützinger

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

Chave artificial dicotômica para identificação dos táxons estudados de Gelidiaceae.

- 1a. Ramificação densa e regular 2
- 1b. Ramificação esparsa e irregular 3
- 2a. Ramificação a partir dos dois terços do ramo e rizines presentes na região medular
Gelidium floridanum
- 2b. Ramificação ao longo de todo ramo, com râmulos de crescimento determinado e rizines
presentes entre a medula e córtex externo *Gelidium* sp. 4
- 3a. Margem do ramo serrilhada *Gelidium microdenticum*
- 3b. Margem lisa 4
- 4a. Altura até 07 cm 5
- 4b. Altura até 02 cm *Gelidium* sp. 3
- 5a. Ramos em forma de fita *Gelidium* sp. 2
- 5b. Ramos filiformes a compressos *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1

Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon, Dictionnaire des Sciences Naturelles 53: 362, 1828.

Basinômio: *Fucus crinalis* Hare ex Turner

Localidade tipo: Ilfracombe, Devon, Inglaterra.

Lectótipo: Museu de História Natural de Londres (BM).

Figuras 44 – 53

Talo isolado ou formando tufo, cartilaginoso, vermelhovináceo escuro a enegrecido, medindo até 3,5 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “brush-like” produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação irregular. Base dos ramos laterais não constricta. Ápice dos ramos vegetativos obtusos ou agudos com célula apical proeminente. Apressórios formados por filamentos rizoidais que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos a levemente compressos, 164-221 µm de diâmetro, formados por medula com cinco camadas de células e três a quatro camadas de células corticais. Poucos rizines espalhados entre a medula e o córtex interno. Ramos eretos linear-filiformes cilíndricos na base, 227-235 µm de diâmetro, podendo se tornar compresso-achatados em direção ao ápice, 152-203 µm de espessura e 332-611 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula com quatro a cinco camadas de células frouxamente dispostas envolvida por quatro a cinco camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 8-12 µm de altura e 4-8 µm de largura. Células medulares circulares, 9-18 µm de diâmetro. Rizines em grande quantidade, localizados na medula ou entre a região medular e o córtex interno. Talos tetrasporangiais mais ramificados do que os vegetativos com ramos férteis mais achatados, 132 µm de espessura e 353 µm de largura. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções distais dos últimos râmulos. Margens estéreis arredondadas presentes ou não. Desenvolvimento do tetrasporângios acropetal. Tetrasporângios maduros ovoides divididos cruciadamente com 19-27 µm de largura e 43-53 µm de comprimento. Não foram observadas plantas gametofíticas.

Material Examinado

Brasil. Ceará: Paracuru, Praia de Munguba, 24.IV.2013, col. C. A. A. Azevedo; B. Torrano; T. Vieira-Pinto (SP469061). Rio Grande do Norte: Maxaranguape, Praia Rio do Fogo, 30.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469062); Natal, Praia do Meio, 02.IV.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469063). Sergipe: Barra dos Coqueiros, Aracajú, 03.I.2014, col. M. T. Fujii (SP469064). Bahia: Porto Seguro, Praia do Espelho, 12.V.2014, col. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S.

Santos (SP469065); Mucuri, Costa Dourada, 25.VII.2014, col. M. T. Fujii (SP469066). Paraná: Ilha do Mel, Encantadas, 12.VII.2014, col. M. T. Fujii (SP469067).

Distribuição para o Brasil

Pará (Oliveira *et al.*, 2002), Maranhão (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Piauí (Oliveira *et al.*, 2002), Ceará (Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Rio Grande do Norte (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Silva, 2010; Guimarães, 2015), Paraíba (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Araujo *et al.*, 2008; Guimarães, 2015), Pernambuco (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Alagoas (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Sergipe (Oliveira *et al.*, 2002), Bahia (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Nunes, 2005; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Ugadim, 1985; Yoneshigue, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Brasileiro *et al.*, 2009; Iha, 2014; Guimarães, 2015), São Paulo (Joly, 1965; Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Paraná (Ugadim, 1974, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Santa Catarina (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Batista, 2012; Guimarães, 2015), Rio Grande do Sul (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015).

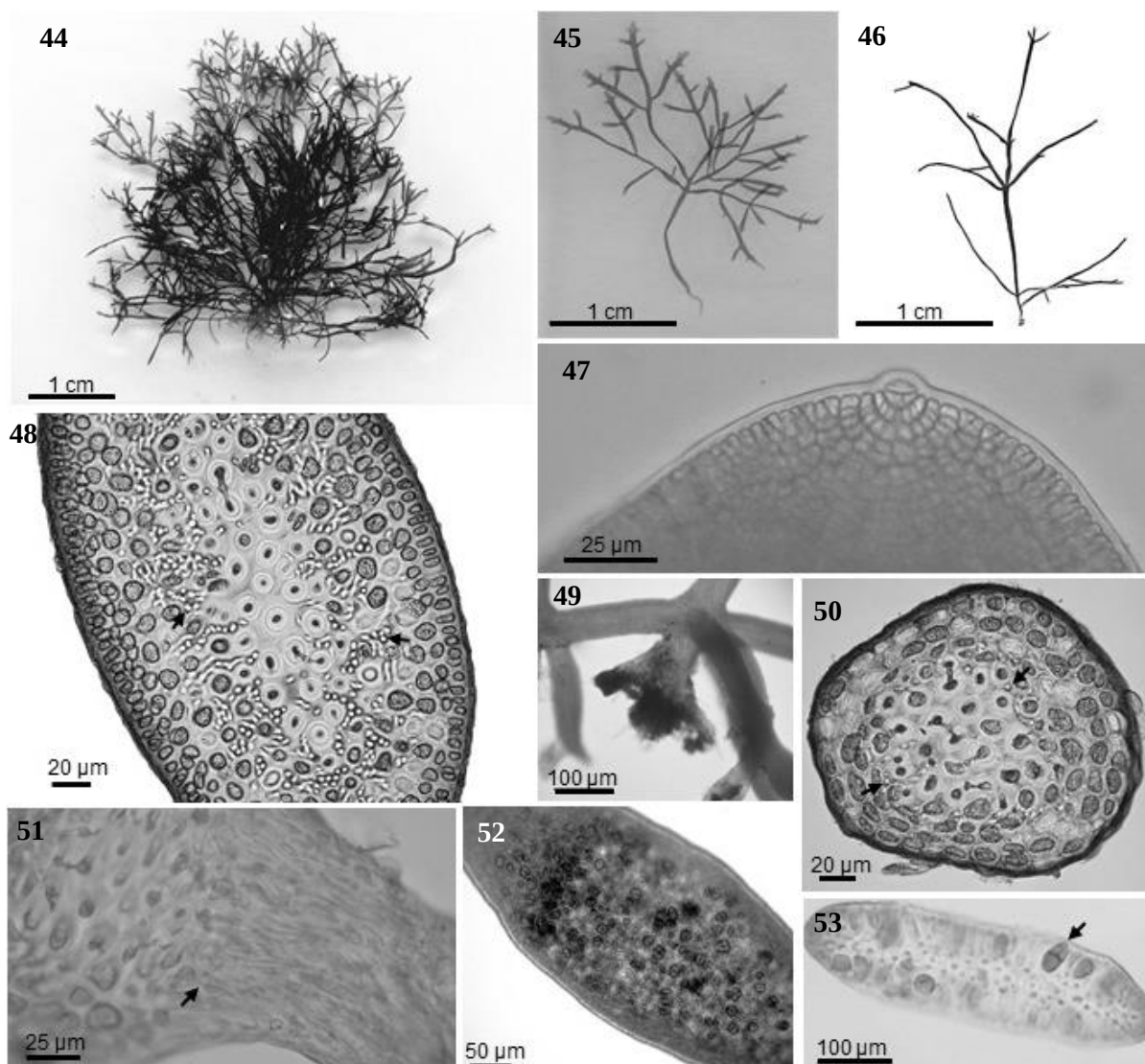
Comentários

Gelidium crinale foi primeiramente descrita por Turner (1819) baseado em espécimes da Grã-Bretanha. Essa espécie é considerada cosmopolita, sendo referida para todos os oceanos, Oceano Índico, Atlântico e Pacífico (Shimada *et al.*, 1999; Millar & Freshwater, 2005; Freshwater *et al.*, 2010; Kim & Boo, 2012). Essa espécie foi amplamente citada em muitos trabalhos florísticos, para todos os estados do litoral brasileiro, tanto na região nordeste quanto no sul.

Esta espécie apresenta grande variedade morfológica concordando com outras descrições realizadas para o Brasil (Joly, 1965; Ugadim, 1985; Yoneshigue, 1985; Silva, 2010 e Iha, 2014), assim como descrições realizadas para outras partes do mundo (Millar & Freshwater, 2005; Kim & Boo, 2012). As amostras encontradas nesse trabalho apresentaram variação morfológica principalmente na ramificação do talo, variando de ramificação abundante e irregular até a ausência de ramificação, e na região em que os rizines estão presentes, os mesmos podem ser encontrados somente na região medular ou entre a região medular e córtex interno.

Confusões taxonômicas tem sido frequentes para esta espécie devido à variabilidade morfológica e os diferentes ambientes que ela pode ser encontrada. A espécie *Gelidium pusillum* era comumente referida para espécies que formavam pequenos tufos (Silva *et al.*, 1996). Assim, Kim & Boo (2012) realizaram um estudo molecular e morfológico detalhado

com essas duas espécies, para esclarecer os problemas nomenclaturais frequentes, limitando *G. pusillum* para o continente Europeu e América do Norte, e *G. crinale* para as demais regiões (Freshwater & Rueness, 1994; Millar & Freshwater, 2005).



Figuras 44 – 53. *Gelidium crinale*. 44 – Hábito. 45 e 46 - Detalhe dos ramos. 47 – Célula apical proeminente. 48 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo, mostrando grande quantidade de rizines entre a região medular e o córtex interno (setas). 49 – Apressório do tipo “brush-like”. 50 – Corte transversal do estolão mostrando poucos rizines espalhados entre a região medular e córtex interno (setas). 51 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados, originados de células corticais internas (setas). 52 – Detalhe do ramo tetrasporangial, mostrando formação de tetrasporângios acropetalmente. 53 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângio (seta) e presença de margem estéril arredondada.

Gelidium floridanum Taylor, Papers of the Michigan Academy of Sciences, Arts and Letters 28: 153, 1943.

Localidade tipo: Rio Indiano, Flórida

Holótipo: Herbário do Jardim Botânico de Nova York (NYBG)

Figuras 54 – 67

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 7,5 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios do tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Talo ereto com eixos principais evidentes e ramificação pinada a partir do segundo terço do talo, podendo ser alterna ou irregular, de até terceira ordem e ocorrendo no mesmo plano. Base dos ramos laterais constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos, com a célula apical entre dois lobos. Apressórios formados por filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos, 279-297 µm de diâmetro, formados por medula de sete a oito camadas de células circundada por três camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical mais externa circulares, 7-11 µm de diâmetro. Células medulares arredondadas, 10-19 µm de diâmetro. Grande quantidade de rizines presente entre a medula e o córtex interno. Ramos eretos cilíndricos na base, 354-370 µm de diâmetro, tornando-se achatado em direção ao ápice, 156 µm de espessura e 825 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do eixo principal, medula com três a cinco camadas de células, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa arredondadas, 4-6 µm de diâmetro. Células medulares grandes de contorno circular e paredes grossas, 8-18 µm de diâmetro. Rizines, 2-4 µm de diâmetro, espalhados em grande quantidade na região medular. Talos tetrasporangiais e cistocárpicos mais ramificados que os vegetativos. Soros de tetrasporângios dispostos ao longo dos râmulos de última ordem do talo. Possuem margens estéreis arredondadas bem evidentes, com rizines concentrados. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios divididos tetraedricamente, ovóides, 23-27 µm de largura e 36-41 µm de comprimento. Cistocarpos subterminais ou terminais em râmulos de penúltima ou última ordem, um ou mais por râmulo, saliente nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo em cada lado da fronde. Pericarpo com quatro a cinco camadas de células. Quantidade grande de células corticais internas alongadas até a placenta. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal do cistocarpo, as alas laterais formadas pela lâmina com grande quantidade de rizines. Não foi observada planta gametofítica masculina.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Maguinhas, Serra, col. L. P. Machado (IBT1505). São Paulo: Itanhaem, Praia do Sonho, 28.V.2013, col. M. Jamas, N. S. Yokoya, C. H. Kano, C. Parqualetti, J. Martinez (SP469068).

Distribuição para o Brasil

Ceará (Guimarães, 2015), Pernambuco (Pereira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Ugadim, 1985; Fernandes & Guimarães, 1998; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Brasileiro *et al.*, 2009; Iha, 2014; Guimarães, 2015), São Paulo (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Paraná (Ugadim, 1974, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Santa Catarina (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Batista, 2012; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio Grande do Sul (Oliveira *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015).

Comentários

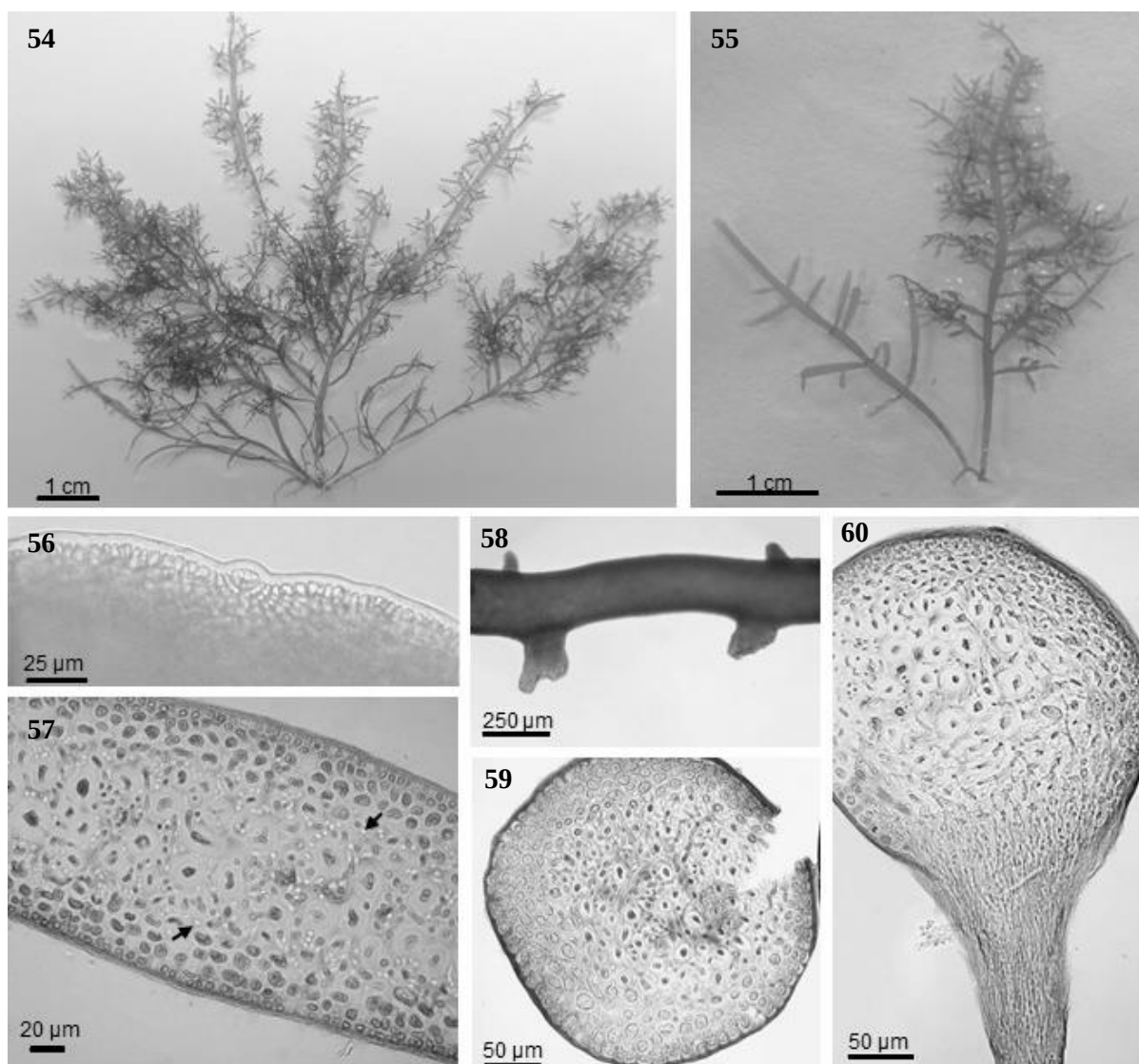
A espécie *Gelidium floridanum* foi estabelecida por Taylor (1943) baseando-se em plantas da Flórida e de Trinidad e Tobago. A espécie foi citada pela primeira vez para o Brasil por Ugadim (1970), com amostras provenientes dos estados de São Paulo e Paraná. Atualmente esta espécie foi comumente registrada nas regiões Sul e Sudeste. Neste trabalho foram encontrados materiais apenas em Espírito Santo e São Paulo.

As plantas foram encontradas em costões rochosos, formando tufos densos, na região entremarés, onde ocorre intensa movimentação da água. O material estudado concorda com as descrições realizadas no Brasil por Ugadim (1985), Fernandes & Guimarães (1998) e Iha (2014). Essa espécie pode ser diferenciada das outras por um conjunto de características: é de grande porte, com ramos até 7,5 cm de altura, apresenta ramificação pinada a partir dos dois terços da planta, apressório do tipo “brush-like”, margens estéreis bem evidentes nos ramos tetrasporangiais e cistocarpo bilocular.

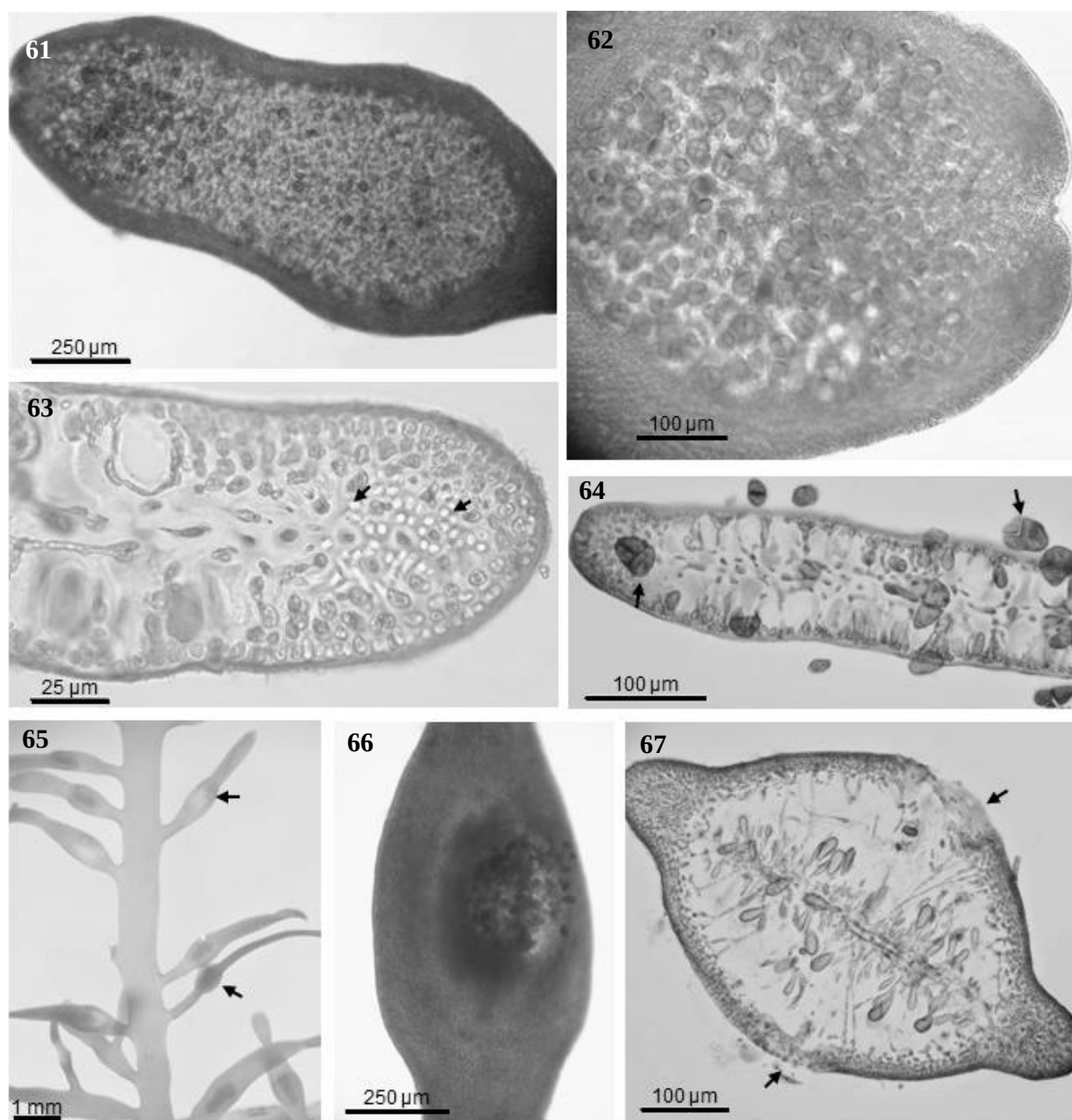
Plantas estéreis dessa espécie podem ser confundida com a espécie *Gelidium coarctatum* e *Pterocladia capillacea* (Ugadim, 1985; Fernandes & Guimarães, 1998), pois são muito semelhantes morfológicamente. *G. floridanum* se diferencia de *G. coarctatum* principalmente pela ramificação e distribuição dos rizines no talo, *G. floridanum* apresenta ramificação pinada a partir dos dois terços do talo, e em corte transversal é possível observar rizines principalmente na região medular, enquanto *G. coarctatum* apresenta ramificação pinada, com ramos de

crescimento determinado ao longo de todos o talo, e os rizines estão presentes entre a medula e o córtex externo.

G. floridanum e *P. capillacea* podem ser diferenciadas pelo apressório, sendo o primeiro do tipo “brush-like” e o segundo do tipo “peg-like”, pela quantidade de camadas celulares na medula, pois *G. floridanum* apresenta muito menos camadas do que *P. capillacea*, e também pela consistência do ramo, sendo *P. capillacea* mais consistente (Ugadim, 1985; Fernandes & Guimarães, 1998).



Figuras 54 – 60. *Gelidium floridanum*. 54 – Hábito. 55 - Detalhe dos ramos. 56 – Célula apical entre lobos. 57 – Detalhe do corte transversal da região mediana do talo vegetativo, mostrando grande quantidade de rizines na região medular (setas). 58 – Apressório do tipo “brush-like”. 59 – Corte transversal do estolão mostrando grande quantidade de rizines na região medular. 60 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados.



Figuras 61 - 67. *Gelidium floridanum*. 61 – Ramo tetrasporangial, mostrando formação dos tetrasporângios no sentido acropetal. 62 – Detalhe do ramo tetrasporangial. 63 – Detalhe do corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando margem estéril, apresentando grande concentração de rizines (setas). 64 – Corte transversal do ramo tetraspórico, mostrando tetrasporângios divididos tetraedricamente (setas). 65 – Gametófito feminino, mostrando cistocarpos nos ramos terminais, salientes em ambas as faces do ramo (setas). 66 – Detalhe do cistocarpio. 67 – Corte transversal do cistocarpio, mostrando formação dos carpósporos para ambos os lados das faces e a formação de um ostíolo em cada uma (setas).

Gelidium microdenticum Taylor, Contr. Univ. Mich. Herb. 9: 169. 1969.

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

Holótipo: (MICH1306400), Herbário da Universidade de Michigan.

Figuras 68 – 75

Talo em tufo formando tapetes, cartilaginoso, vermelho vináceo a vermelho enegrecido, medindo até 0,5 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com margem serrilhada, pouco ramificado e quando presente ramificações opostas a irregulares, com eixo principal evidente. Base dos ramos laterais constrita. Ápice dos ramos vegetativos obtuso, com célula apical entre lobos corticais. Apressórios formados por filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam de células do córtex interno, formando uma massa rizoidal de filamentos entrelaçados. Estolões cilíndricos, 154-164 µm de diâmetro, formados por medula de três a quatro camadas de células circundadas por quatro camadas de células corticais. Grande quantidade de rizines entre a região medular e o córtex interno. Ramos eretos cilíndricos na base, tornando-se achatados em direção ao ápice, 69-72 µm de espessura e 928-939 µm de largura. Em corte transversal na região mediana, medula com uma camada de células frouxamente dispostas, formando uma fileira de células centrais evidente, envolvida por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 4-7 µm de diâmetro. Células medulares grandes de contorno circular de paredes grossas, 6-11 µm de diâmetro. Rizines, 2-3 µm de diâmetro, abundantes na região medular, chegando até o córtex interno. Soros de tetrasporângio dispostos em ramos laterais, sem margens estéreis, ou pequenas margens arredondadas com rizines. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente com 22-26 µm de largura e 30-34 µm de comprimento. Não foram observadas plantas gametofíticas.

Material Examinado

Brasil. Paraná: Ilha do Mel, Praia de Encantadas, 12.VII.2014, col. M. T. Fujii (IBT1797/SP469069); Matinhos, Praia de Caiobá, 11.VII.2014, col. M. T. Fujii (IBT1805/SP469070).

Distribuição para o Brasil

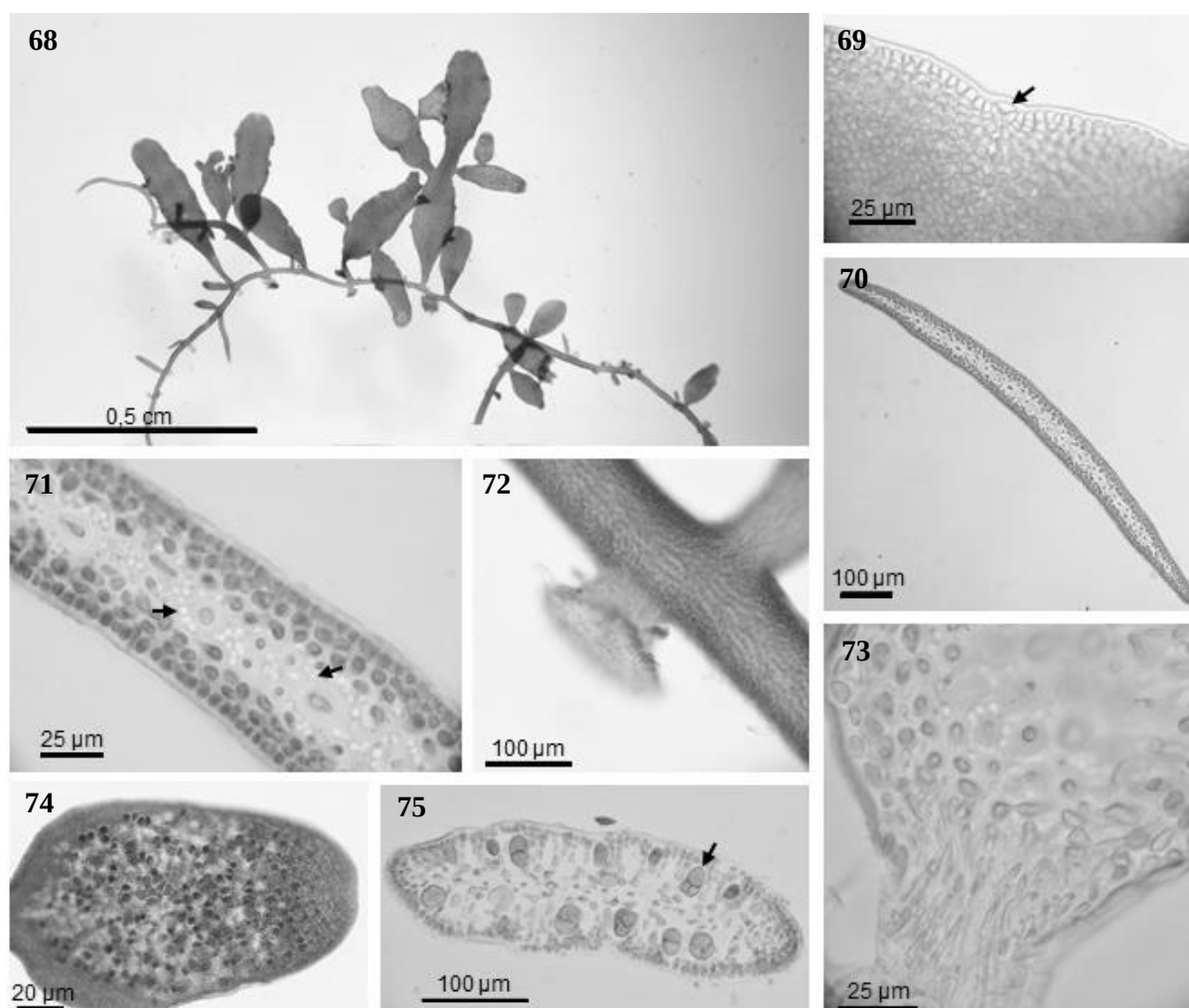
Espírito Santo (Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Iha, 2014; Guimarães, 2015), São Paulo (Iha, 2014; Guimarães, 2015).

Como *Gelidium pusillum* (Stackn.) Le Jolis var. *conchicola* Piccone & Grunow
Espírito Santo (Ugadim, 1985), São Paulo (Joly, 1964; Ugadim, 1985), Paraná (Ugadim, 1985),
Santa Catarina (Ugadim, 1985).

Comentários

Gelidium microdonticum foi primeiramente descrita por Taylor (1969) com base em material de Barbados. Para o Brasil, essa espécie era citada para a região sul e sudeste, erroneamente com o nome de *Gelidium pusillum* (Stackn.) var. *conchicola*. Um estudo morfológico e molecular realizado por Thomas & Freshwater (2001) revelou que as sequências da espécie brasileira agrupavam com *G. microdonticum* da Costa Rica, confirmando que pertencem a mesma espécie, e no mesmo trabalho, concluíram que a espécie *G. pusillum* estava restrita as localidades da Europa e Atlântico da América do Norte, confirmando as identificações errôneas para o Brasil, que concordam morfológicamente com a espécie *G. microdonticum*. Iha (2014) fez o primeiro relato da espécie com o nome corretamente citado para o Brasil.

As principais características morfológicas que definem essa espécie é o tamanho diminuto do talo, com até 0,5 cm de altura, apresentando margem serrilhada e em corte transversal dos ramos, observa-se apenas uma fileira de células medulares, com grande quantidade de rizines na região. Essas características concordam com as descritas por Thomas & Freshwater (2001). O material foi coletado na faixa superior da zona entremarés, formando um denso tapete.



Figuras 68 – 75. *Gelidium microdenticum*. 68 – Hábito. 69 – Célula apical entre lobos (seta). 70 – Corte transversal da região mediana do talo vegetativo. 71 – Detalhe do corte transversal, mostrando grande quantidade de rizines na região medular (setas). 72 – Apressório do tipo “brush-like”. 73 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados, originados de células corticais internas. 74 – Detalhe do ramo tetrasporangial, mostrando formação de tetrasporângios acropetalmente. 75 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângio com divisão tetraédrica (seta).

Gelidium sp. 1

Figuras 76 – 92

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo a enegrecido, medindo até 3,4 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos simples ou ramificação esparsa a abundante, irregular de até terceira ordem. Base dos ramos laterais não constricta. Ápices dos ramos vegetativos obtusos com célula apical proeminente. Apressórios formados por filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos, 171-298 µm de diâmetro, formados por uma medula de seis a sete camadas de células circundada por três a quatro camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão células corticais transversalmente elípticas a circulares, células medulares com parede celular grossa, circulares. Rizines presentes entre a região medular e o córtex interno. Ramos cilíndricos na base, 170-331 µm de diâmetro, tornando-se compressos em direção ao ápice, 85-209 µm de espessura e 307-345 µm de largura, a achatados, 47-136 µm de espessura e 386-1291 µm de largura, podendo tornarem-se cilíndricos novamente próximo ao ápice. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula com oito a nove camadas de células nas porções compressas e três a quatro camadas de células, frouxamente arranjadas, nas porções achatadas, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 5-10 µm de diâmetro, a elípticas 3-6 µm de largura e 6-13 µm de comprimento. Células medulares com parede celular grossa, circulares transversalmente, 6-13 µm de diâmetro. Rizines, 2-5 µm de diâmetro, presentes em grande quantidade na região medular, raramente presente entre a região medular e o córtex interno. Soros de tetrasporângios dispostos nas regiões apicais dos râmulos. Râmulos tetraspóricos sem margem estéril ou com uma pequena margem arredondada. Poucos rizines concentrados nas margens estéreis. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros divididos cruciadamente, 16-30 µm de largura e 23-52 µm de comprimento. Cistocarpos subterminais ou terminais em râmulos de última ordem, saliente nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo em cada lado da fronde. Pericarpo com três a quatro camadas de células. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal do cistocarpo, as alas laterais são estreitas, apresentando pouca concentração de rizines.

Material Examinado

Brasil. Piauí: Luis Correia, Pedra do Sal, 22.VI.2013, col. M. T. Fujii; D. Milstein (SP469080), 26.VI.2013, col. M. T. Fujii; D. Milstein (SP469081). Ceará: Camocim, Praia do Farol, 24.VI.2013, col. M. T. Fujii; D. Milstein (SP469082); Paracuru, Praia da Munguba, 24.IV.2013, col. B. N. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469071); Icapuí, Praia de Ponta Grossa, 27.IV.2013, C. A. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto (SP469072). Rio Grande do Norte: Conde, Praia de Jacumã, 18.X.2012, col. S. M. P. B. Guimarães (SP469073); São Miguel do Gostoso, Praia do Cardeiro, 29.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469074), Praia de Tourinhos, 29.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469075). Pernambuco: Ipojuca, Praia do Toquinho, 17.IX.2013, col. M. T. Fujii (SP469076). Bahia: Camaçari, Praia de Jauá, 23.V.2013, col. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469077). Porto Seguro, Praia do Espelho, 12.V.2014, col. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos (SP469078).

Comentários

Gelidium sp. 1 apresenta grande variação morfológica, apresentando ramos eretos compressos ou achatados, simples ou ramificados, célula apical proeminente ou levemente entre lobos corticais (IBT1621). As características são iguais às encontradas para a espécie *G. crinale*. O material foi coletado na região inferior do mediolitoral em recifes de arenito.

Esta espécie pode ser uma espécie nova para a ciência, ficando despercebida anteriormente por apresentar as mesmas características de *G. crinale*, sendo erroneamente identificada.

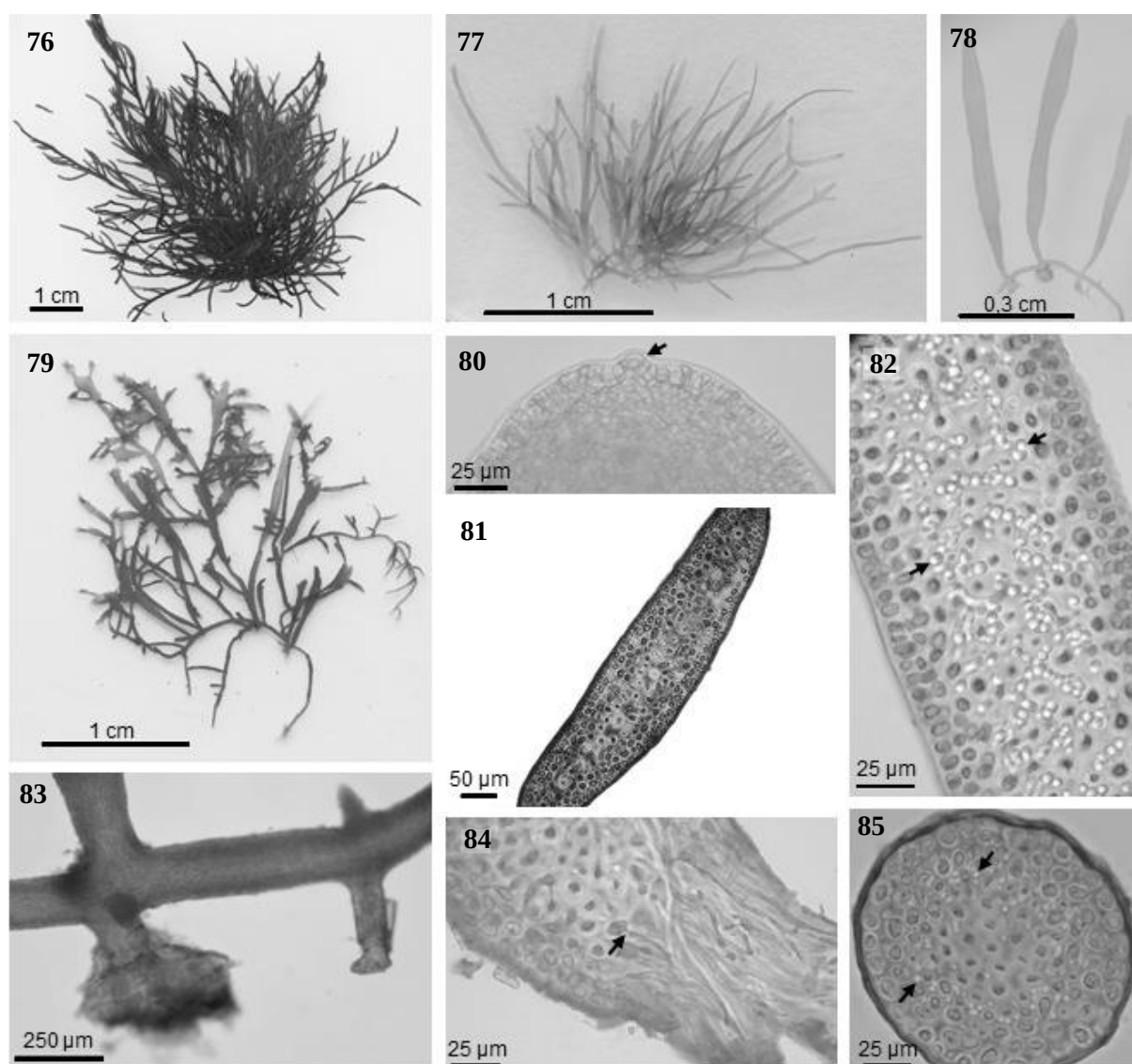


Figura 76 – 85. *Gelidium* sp. 1. 76 e 77 – Hábito. 78 – Ramo simples. 79 – Ramo ramificado. 80 – Ápice obtuso com célula apical proeminente (seta). 81 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo. 82 – Detalhe do corte do ramo, mostrando grande quantidade de rizines na região medular. 83 – Apressório do tipo “brush-like”. 84 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados, originados de células corticais internas (seta). 85 – Corte transversal do estolão mostrando os rizines entre a região medular e o córtex externo (setas).

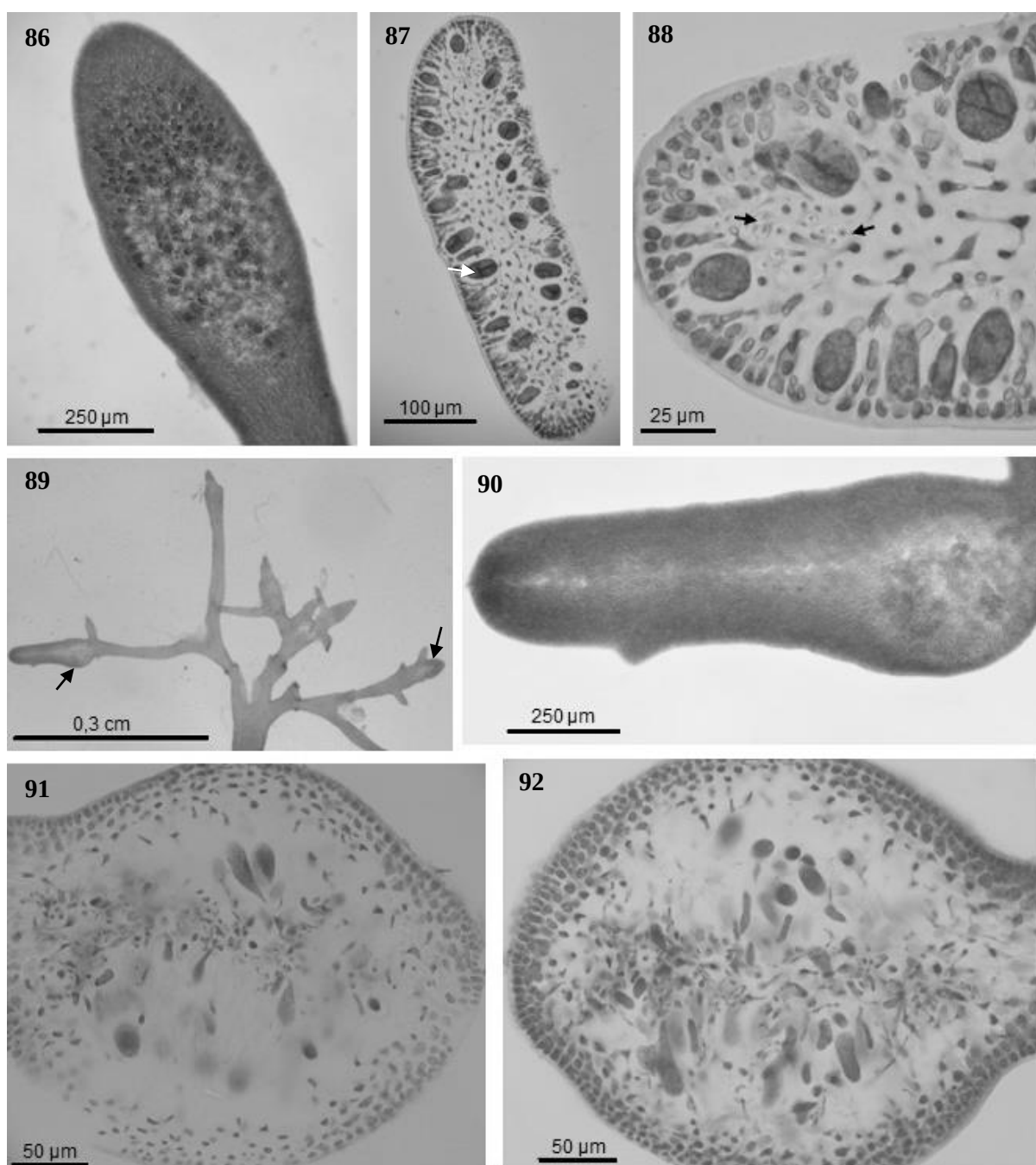


Figura 86 – 92. *Gelidium* sp. 1. 86 – Ramo tetrasporangial. 87 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângios (seta). 88 – Detalhe do corte, mostrando concentração de rizines na margem (setas), e ausência de margem estéril. 89 – Ramos femininos com cistocarpos (setas). 90 – Detalhe do ramo feminino. 91 e 92 – Corte transversal do cistocarpo, mostrando a formação dos carpósporos para ambos os lados das faces do talo.

Gelidium sp. 2

Figuras 93 – 99

Talo em tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 7,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação esparsa, irregular. Bases dos ramos laterais constrita. Ápice dos ramos agudos a obtusos, com célula apical levemente proeminente entre lobos. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais que se originam de células do córtex interno. Estolões cilíndricos, 183-209 μm de diâmetro, formados por medula com quatro a cinco camadas de células de parede grossa, circundada por três a quatro camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas e células medulares circulares. Rizines presentes em pouca quantidade principalmente na região entre a medula e o córtex interno. Ramos eretos, cilíndricos na base, 380 μm de diâmetro, e em forma de fita ao longo do talo, 134-141 μm de espessura e 818-820 μm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula com quatro camadas de células frouxamente dispostas, envolvida por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares com 6-8 μm de diâmetro. Células medulares com paredes grossas, circulares transversalmente, 10-19 μm de diâmetro. Rizines em grande quantidade presentes na região medular, 3-4 μm de diâmetro. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Rio Grande do Norte: Maxaranguape, Praia Rio do Fogo, 30.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469079).

Comentários

Os espécimes observados não apresentam afinidade morfológica com nenhuma espécie descrita para o Brasil. Estudos moleculares mostraram que essa espécie se agrupa com a espécie referida como *Gelidium* sp. 2 encontrada por Iha (2014), no Espírito Santo e São Paulo, mas morfológicamente essas espécies são bem distintas. Os exemplares estudados por Iha (2014), apresentam ramos eretos filiformes, ápice dos ramos agudos, com célula apical proeminente. A autora também não encontrou plantas férteis, e comenta ser uma espécie de ocorrência rara, assim como a espécie desse trabalho, encontrada apenas do estado do Rio Grande do Norte.

Essa espécie pode ser diferenciada das outras encontradas nesse trabalho principalmente pelo hábito, pois apresentam ramos vermelho vináceo, longos em forma de fitas, até 7,0 cm de altura, características observadas apenas para esse táxon.

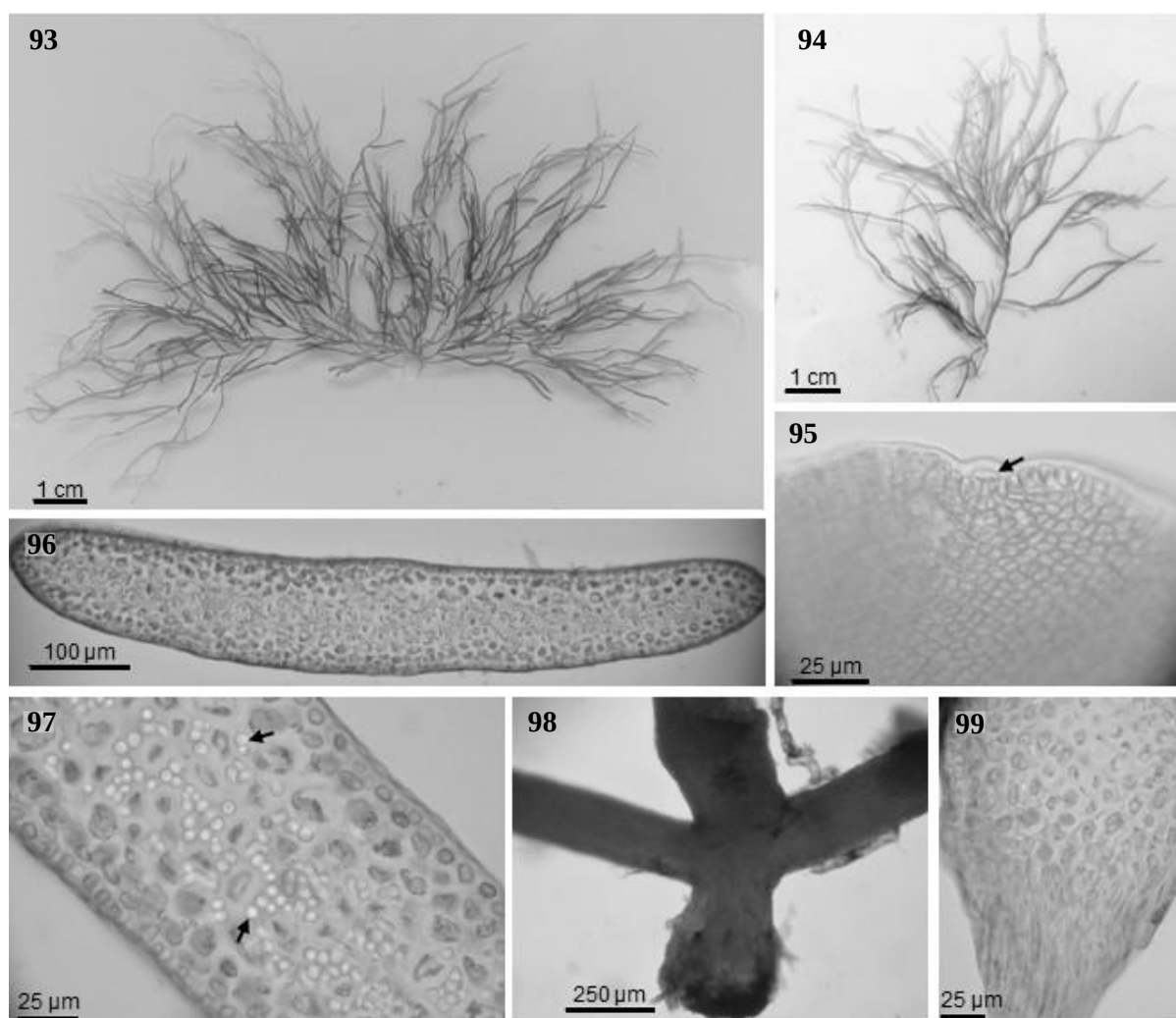


Figura 93 – 99. *Gelidium* sp. 2. 93 – Hábito. 94 – Detalhe do ramo. 95 – Célula apical entre lobos (seta). 96 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo. 97 – Detalhe do corte, mostrando grande quantidade de rizines na região medular (setas). 98 – Apressório do tipo “brush-like”. 99 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados, originados de células corticais internas.

Gelidium sp. 3

Figuras 100 – 116

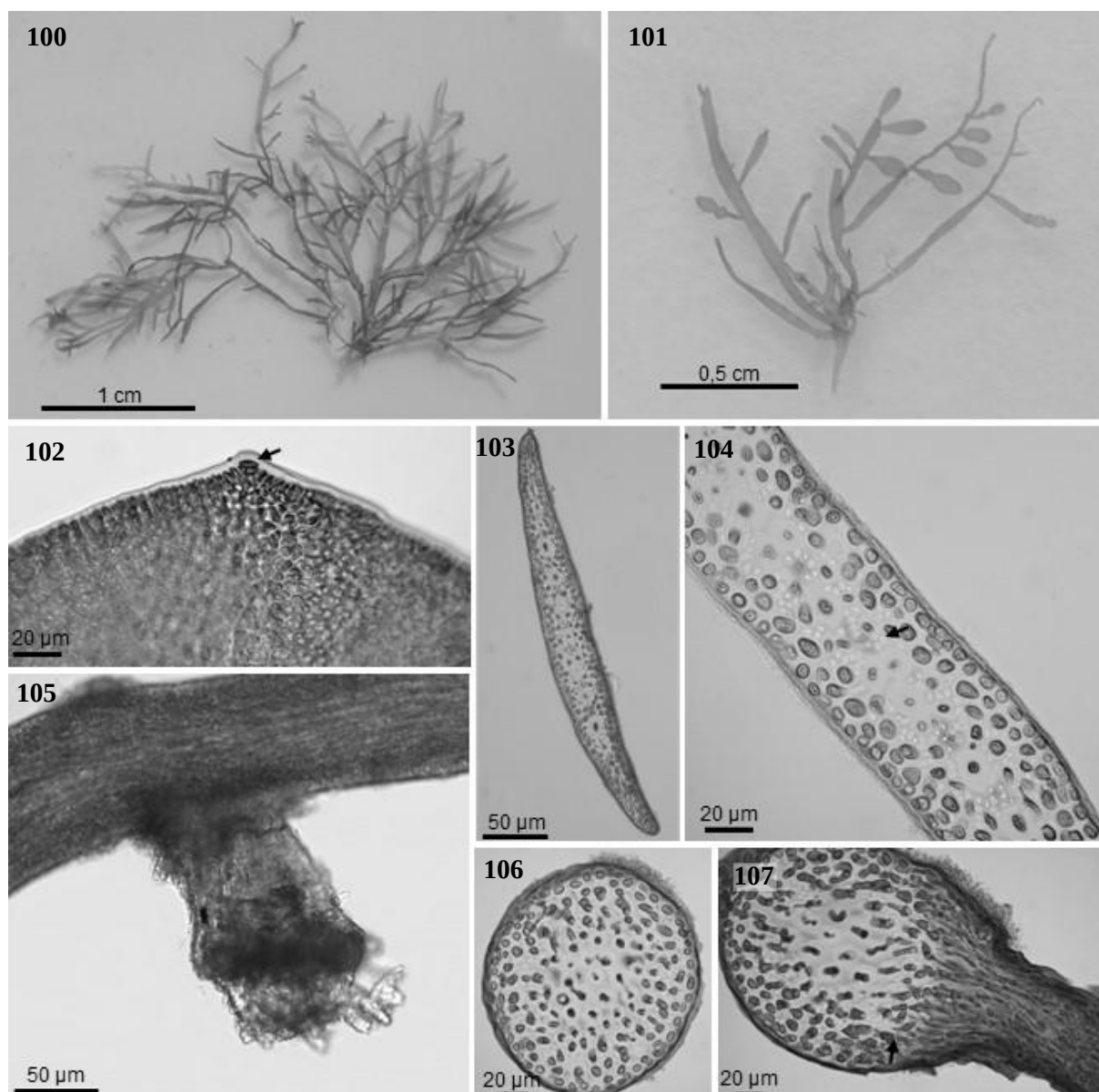
Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação irregular a oposta no mesmo plano. Base dos ramos laterais constrita. Ápices agudos com célula apical proeminente. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos, 162-180 µm de diâmetro, formados por uma medula de cerca de cinco camadas de células circundada por quatro camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas e as células medulares circulares, com parede celular grossa. Rizines localizados no córtex interno. Ramos eretos compressos na base tornando-se achatados no ápice, 38-77 µm de espessura e 315-642 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula formada por duas camadas de células, frouxamente arranjadas, circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 4-7 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 7-9 µm de diâmetro, formando uma fileira de células alinhadas. Rizines abundantes, 1-3 µm de diâmetro, espalhados pela região medular até o córtex interno. Soros de tetrasporângios desenvolvem-se principalmente nas porções distais dos últimos râmulos. Possuem margens estéreis levemente afinadas. Padrão de desenvolvimento dos tetrasporângios é de acropetal a irregular. Rizines concentrados principalmente nas margens estéreis. Tetrasporângios maduros, ovóides, 36-39 µm de comprimento e 29 µm de largura, divididos cruciadamente. Cistocarpos subterminais ou terminais em râmulos de penúltima ou última ordem, saliente nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo em cada lado da fronde. Pericarpo com três a quatro camadas de células. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal do cistocarpo, as alas laterais formadas pela lâmina com grande quantidade de rizines. Não foram observados gametófitos masculinos.

Material Examinado

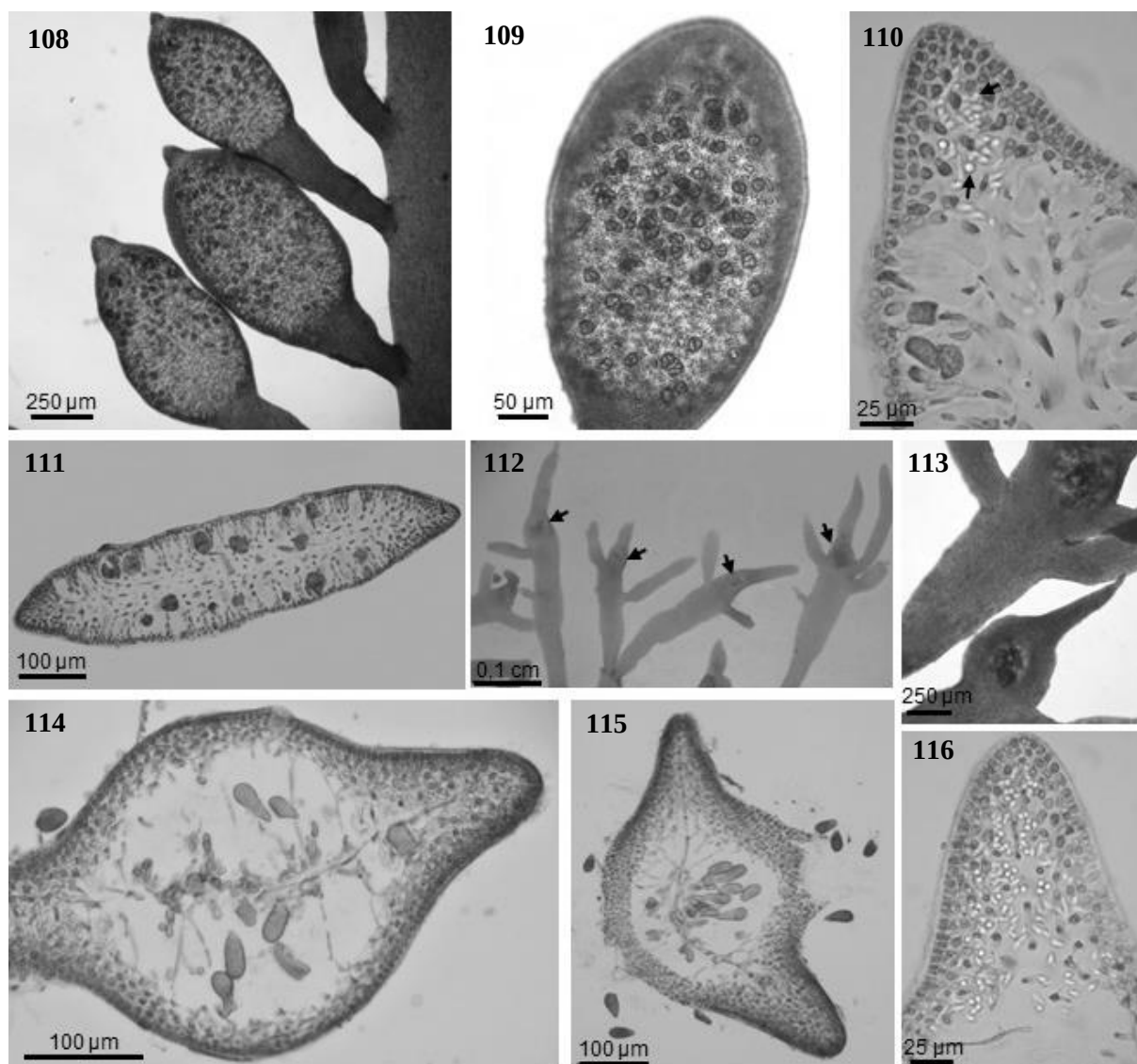
Brasil. Paraíba: Conde, Praia de Carapibus, 01.IV.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469083). Bahia: Ilha de Itaparica, Praia da Penha, 29.IV.2010, col. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya (SP469084).

Comentários

Foram encontrados apenas dois espécimes desse táxon. A morfologia de *Gelidium* sp. 3 pode ser diferenciada pela presença de uma margem estéril afinada nos ramos tetraspóricos, característica que não foi observada em nenhum outro táxon encontrado nesse trabalho.



Figuras 100 – 107. *Gelidium* sp. 3. 100 – Hábito. 101 – Detalhe do ramo. 102 – Célula apical proeminente (seta). 103 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo. 104 – Detalhe do corte, mostrando grande quantidade de rizines na região medular (seta). 105 – Apressório do tipo “brush-like”. 106 – Corte transversal do estolão. 107 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados, originados de células corticais internas (seta).



Figuras 108 – 116. *Gelidium* sp. 3. 108 – Ramo tetrasporangial. 109 – Detalhe do ramo tetrasporangial. 110 – Detalhe do corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando concentração de rizines em margens levemente afinadas (setas) e presença de margem estéril. 111 – Corte transversal do ramo tetrasporangial. 112 – Gamentângio feminino, mostrando cistocarpos (setas). 113 – Detalhe do ramo feminino. 114 e 115 – Corte transversal do cistocarpo, mostrando a formação dos carpósporos para ambos os lados da face do talo. 116 – Detalhe da aba do cistocarpo com grande concentração de rizines.

Gelidium sp. 4

Figuras 117 – 131

Talo isolado ou formando tufo, cartilaginoso, vermelho escuro, medindo até 12,5 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “brush-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação oposta, pinadas de até terceira ordem, sendo a maioria dos râmulos de crescimento determinado. Base dos ramos laterais constrita. Ápices de ramos principais obtusos com célula apical entre dois lobos corticais. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos com 206-311 µm de diâmetro, em corte transversal formado por uma medula de quatro a cinco camadas de células circulares, circundada por três a quatro camadas de células corticais elípticas. Grande quantidade de rizines concentrados entre a medula externa e o córtex interno, alguns dispersos pela medula interna. Ramos eretos são cilíndricos a compressos na base, 312-350 µm de espessura e 451-471 µm de largura, tornando-se achatados em direção ao ápice, 235-241 µm de espessura e 1147-1689 µm de largura. Em corte transversal, medula com até 7 camadas de células, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a cuboides, 4-6 µm de diâmetro. Células medulares circulares transversalmente, 12-24 µm de diâmetro, com parede espessa. Rizines, 2-4 µm de diâmetro, presentes em grande quantidade, concentrados entre a medula e o córtex interno. Soros de tetrasporângios ocorrem em ramos densamente ramificados, desenvolvendo-se principalmente nos ápices dos râmulos terminais, com margens estéreis arredondadas com muitos rizines concentrados, podendo também estar dispersos na região medula. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros ovóides alongados, 20-37 µm de largura e 40-50 µm de comprimento, divididos tetraedricamente. Gametófitos masculinos encontrados nos ramos principais e laterais, podendo ter mais de um soro por ramo. Espermatângios originados de corte transversal das células corticais externas alongadas. Não foram observados gametófitos femininos.

Material Examinado

Brasil. Piauí: Luis Correia, Pedra do Sal, col. M. T. Fujii, D. Milstein (SP469085). Ceará: Camocim, Praia do Farol, 24.VI.2013, col. M. T. Fujii e D. Milstein (IBT1561, IBT1564); Trairi, Praia de Guajiru, 25.IV.2013, col. B. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469087); Caucaia, Praia do Pacheco, 28.VI.2013, col. C. H. Kano, L. P. Soares (SP428758). Rio Grande do Norte: São Miguel do Gostoso, Praia do Cardeiro, 29.III.2014, col. M. Jamas,

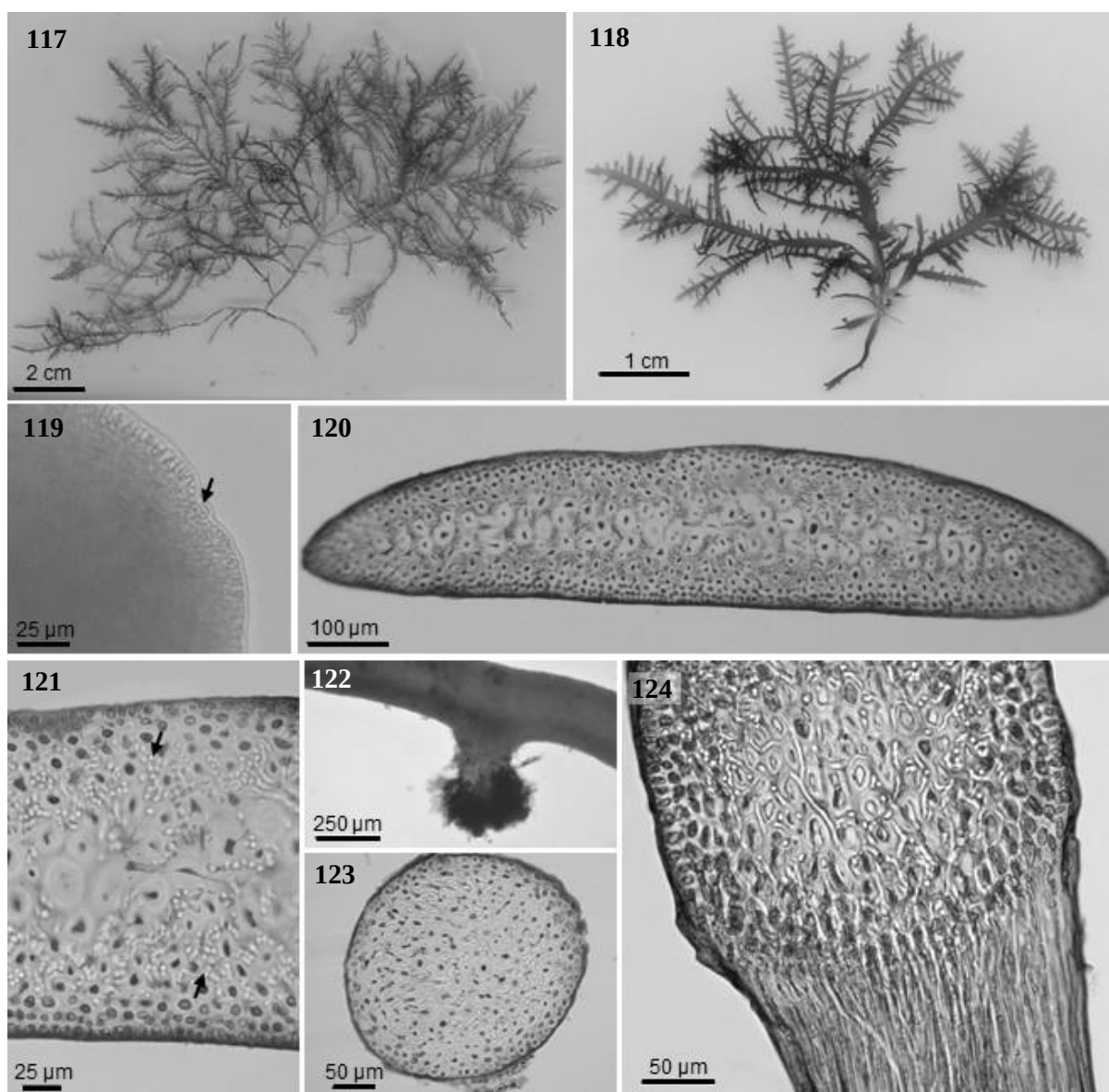
M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469089); Maxaranguape, Praia Rio do Fogo, 30.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469090). Paraíba: Baía da Traição, Praia Baía da Traição, 31.III.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469091); Rio Tinto, Barra de Mamanguape, 11.III.2013, col. M. T. Fujii (SP429048); Conde, Praia de Carapibus, 01.IV.2014, col. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469093). Alagoas: São Miguel dos Milagres, Praia do Boqueirão, 22.XI.2014, col. M. T. Fujii (SP469094), Praia Porto da Rua, 21.XI.2014, col. M. T. Fujii (SP469095). Bahia: Itaparica, Penha, 29.IV.2010, col. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya (SP429049). Espírito Santo: Serra, Praia de Carapebus, 23.VI.2013, col. C. H. Kano, L. P. Machado (SP428757).

Comentários

Gelidium sp. 4 foi amplamente encontrada na a região estudada. A principal característica morfológica que pode ser observada para diferenciar esse táxon é o habito, pois os talos são grandes, com até 12,5 cm de altura, com ramificação oposta regular, de até terceira ordem, com râmulos de crescimento determinado. Essa espécie foi coletada na região entremarés em recifes de arenito, formando densas populações em regiões batidas. Também foi encontrada crescendo associada com a espécie *Gelidiella acerosa*.

Seus representantes apresentam características semelhantes com *Gelidium floridanum*, mas podem ser diferenciadas pela ramificação, sendo *G. floridanum* com ramificação a partir de dois terços do ramo, e não apresentando tantos râmulos de crescimento determinado. Além do fato de *G. floridanum* ter sido encontrado apenas na região sudeste e sul e *Gelidium* sp. 4 facilmente encontrada na região do nordeste.

Gelidium sp. 4 corresponde a espécie *Gelidium* sp. 5 encontrada por Iha (2014) na região sudeste do Brasil. Segundo a autora, essa espécie tem sido identificada como *Gelidium coarctatum*, que foi descrita por Kützinger (1868) e tem como localidade tipo o estado de Pernambuco (Brasil). A autora comparou os materiais identificados como *G. coarctatum* com o material-tipo e observou que são bem diferentes morfológicamente, colocando em dúvida as identificações com esse nome. Iha (2014) também realizou um estudo molecular com o material-tipo, concluindo que *G. coarctatum* se trata na verdade da espécie *Gelidium capense* (S.G.Gmelin) P.C.Silva. A autora concluiu que a espécie *Gelidium* sp. 4 se trata de uma espécie nova.



Figuras 117 – 124. *Gelidium* sp. 4. 117 – Hábito. 118 – Detalhe do ramo. 119 – Célula apical entre lobos (seta). 120 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo. 121 – Detalhe do corte, mostrando grande quantidade de rizines na região medular (setas). 122 – Apressório do tipo “brush-like”. 123 – Corte transversal do estolão. 124 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais desordenados.

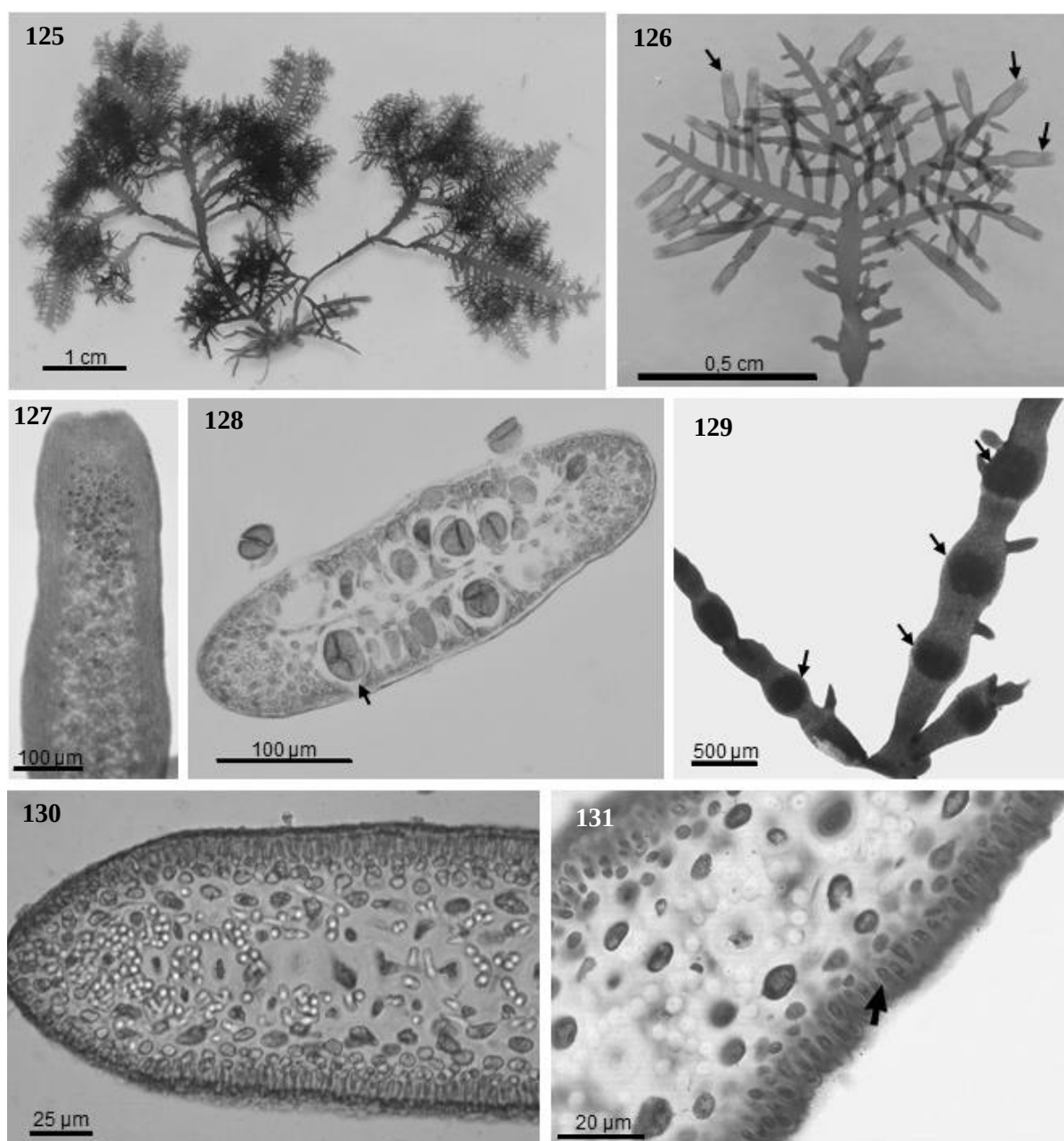


Figura 125 – 131. *Gelidium* sp. 4. 125 – Hábito tetraspórico. 126 – Detalhe do hábito, mostrando ramos tetrasporangiais (setas). 127 – Detalhe do ramo tetrasporangial, mostrando desenvolvimento acropetal dos tetrasporângios. 128 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângios com divisão tetraédrica (seta) e concentração de rizines na margem estéril. 129 – Ramos masculino, mostrando soros espermatangiais (setas). 130 – Detalhe do corte transversal, mostrando distribuição de rizines. 131 – Detalhe do corte, mostrando divisão transversal da célula mãe para formar espermácios (seta).

Família Pterocladaceae G. P. Felcini & C. Perrone

Gênero tipo: *Pterocladia* Agardh (1851)

Chave artificial dicotômica para identificação dos táxons estudados de Pterocladaceae.

- 1a. Ramos filiformes a compressos 2
- 1b. Ramos achatados *Pterocладиella beachiae*
- 2a. Ápice agudo, com célula apical proeminente *Pterocладиella bartlettii*
- 2b. Ápice obtuso, com célula apical proeminente *Pterocладиella* sp.

Pteroclatiella bartlettii (W.R. Taylor) Santelices, Papers of The Michigan Academy of Science, Arts and Letters. 28: 156, 1943.

Basinômio: *Pterocladia bartlettii* W.R.Taylor

Localidade tipo: Saint Louis du Sud, Haiti.

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan (MICH)

Figuras 132 – 146

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,2 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “peg-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos simples ou com ramificação pinada a irregular, podendo apresentar séries bilaterais de pequenos ramos na região mediana até o ápice do talo. Base dos ramos laterais constrita. Ápice dos ramos agudo, com célula apical proeminente. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros. Estolões cilíndricos a compressos, 100-111 µm de espessura e 120-144 µm de largura, formados por uma medula de três camadas de células circundada por três camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical e células medulares são circulares. Raríssimos rizines. Ramos eretos vegetativos cilíndricos na base, 88-101 µm de diâmetro, tornando-se compressos em direção ao ápice, 146-152 µm de espessura e 212-213 µm de largura, e achatados nas regiões férteis, 127-148 µm de espessura e 339-340 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula com cinco a seis camadas de células, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 7-13 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 9-12 µm de diâmetro. Poucos rizines, 2-4 µm de diâmetro, na região da medula. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais dos ramos. Podem ou não apresentar margens estéreis arredondadas. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetalmente, arranjados em fileiras paralelas, sutilmente formando a letra V aberta. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente, ovóides, 25-31 µm de largura e 38-45 µm de comprimento. Cistocarpos terminais ou subterminais nos ramos, podendo ter mais de um por ramo, uniloculares, com um único ostíolo. Em corte transversal, pericarpo com três a quatro camadas de células. Placenta formada por células do gonimoblasto e filamentos nutritivos. Carpósporos se desenvolvem a partir de filamentos gonimoblásticos, que se desenvolvem ao redor da célula axial. As alas laterais são curtas e com raríssimos rizines. Soros de espermatângios localizados ao longo dos ramos férteis. Espermatângios localizados na região das células corticais externas, em ambas as faces do ramo fértil.

Material Examinado

Brasil. Piauí: Luis Correia, Pedra do Sal, 26.VI.2014, M. T. Fujii e D. Milstein (SP469098). Ceará: Caucaia, Praia do Pacheco, 18.VI.2013, C. H. Kano (IBT1623). Rio Grande do Norte: Maracajá, Praia Ponta dos Anéis, 04.X.2009, I. B. Silva (SP469100); Maxaranguape, Praia Rio do Fogo, 30.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469101); Vila do Pescadores, Praia da Pipa, 16.X.2012, S. M. P. B. Guimarães (SP469102). Paraíba: Conde, Praia de Carapibus, 27.VII.2012, M. T. Fujii (IBT1503). Pernambuco: Recife, Praia de Boa Viagem, 28.IX.2011, S. M. P. B. Guimarães (SP469104), 01.X.2011, S. M. P. B. Guimarães (SP469105); Cabo, Enseada dos Corais, 27.IX.2011, S. M. P. B. Guimarães (SP469106); Ipojuca, Praia de Muro Alto, 19.IX.2013, M. T. Fujii (SP469107). Alagoas: Marechal Deodoro, Praia do Francês, 10.III.2013, C. A. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto (SP469108). Sergipe: Estância, Praia do Saco, 02.I.2014, M. T. Fujii (SP469109). Bahia: Arembepe, Praia de Arembepe, 23.IX.2010, J. M. Nunes, (SP469110); Prado, Praia do Tororão, 14.V.2014, B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos (SP469111).

Distribuição para o Brasil

Maranhão (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Piauí (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Ceará (Oliveira *et al.*, 2002), Rio Grande do Norte (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Paraíba (Ugadim, 1985; Oliveira *et al.*, 2002; Guimarães, 2015), Pernambuco (Oliveira *et al.*, 2002), Alagoas (Oliveira *et al.*, 2002), Sergipe (Oliveira *et al.*, 2002), Bahia (Oliveira *et al.*, 2002; Nunes, 2005; Guimarães, 2015), Espírito Santo (Ugadim, 1985; Fernandes & Guimarães, 1998; Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Ugadim, 1985; Iha, 2014; Guimarães, 2015), São Paulo (Iha, 2014; Guimarães, 2015), Santa Catarina (Iha, 2014).

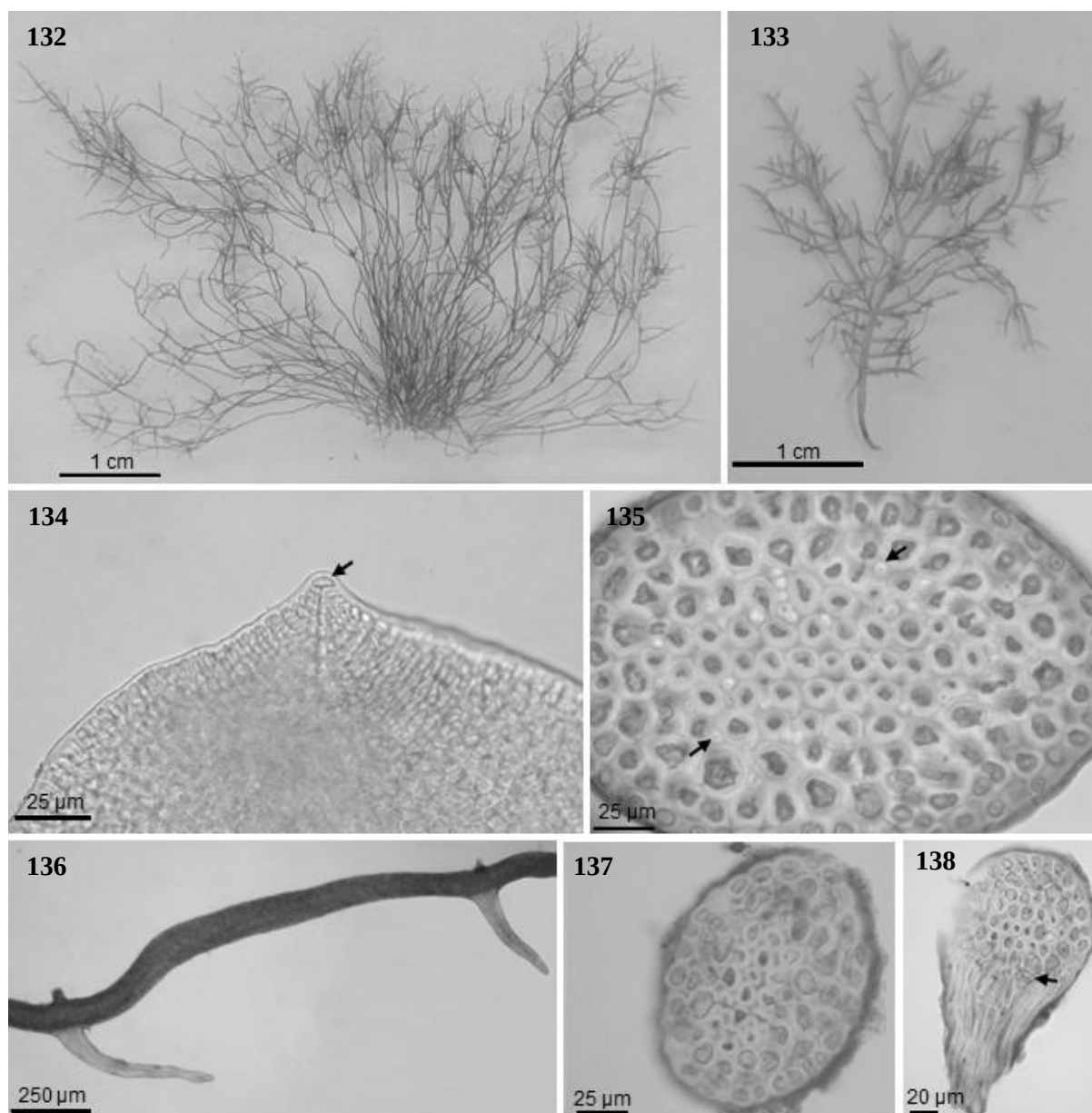
Comentários

A espécie *Pterocliadiella bartlettii* foi descrita primeiramente por Taylor (1943), como *Pterocladia bartlettii*, com base em espécimes coletados no Haiti. Através de estudos morfológicos, Santelices (1998) transferiu a espécie para o gênero *Pterocliadiella*, pois apresentava características vegetativas e do cistocarpo que pertenciam a esse gênero.

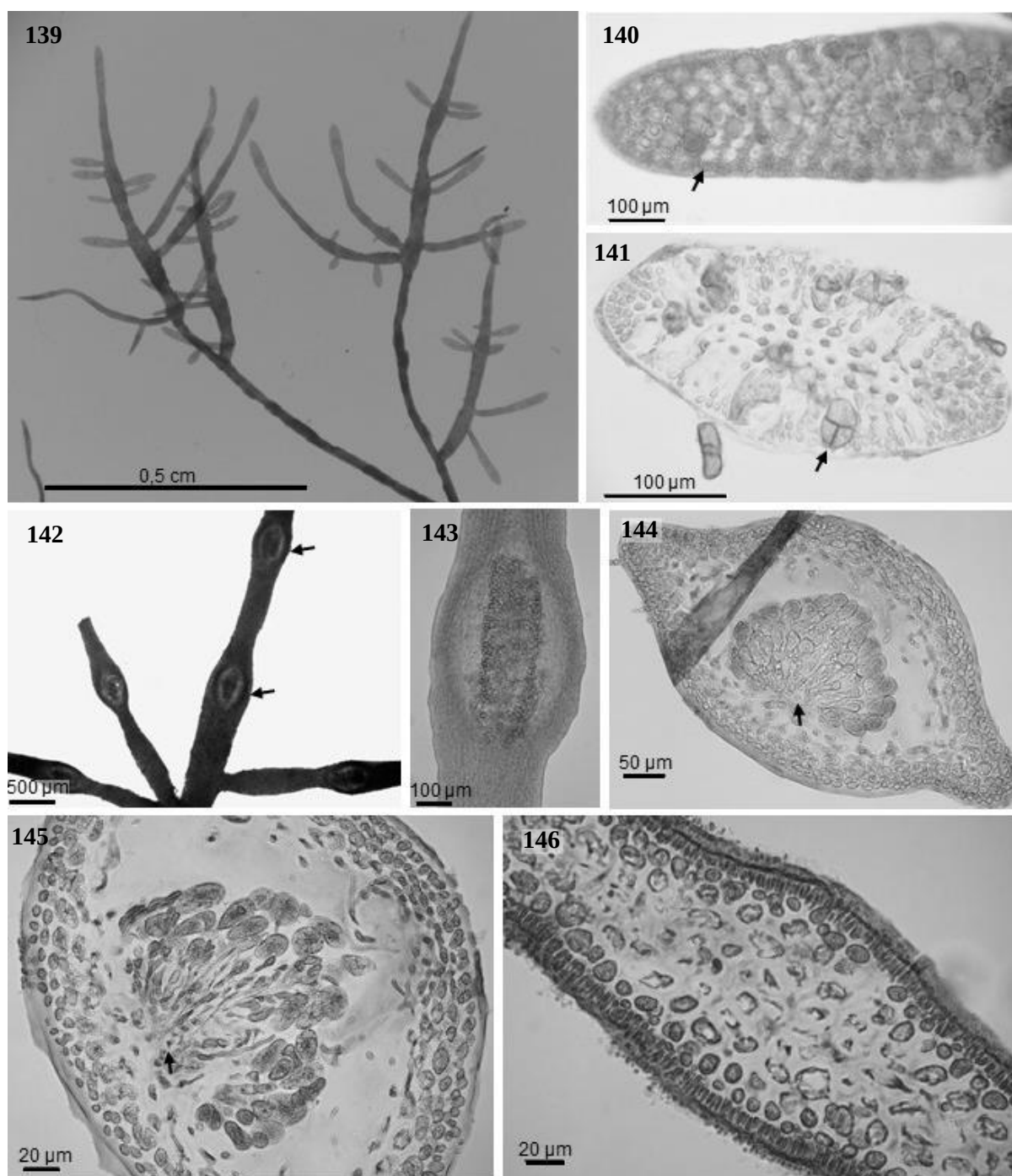
Essa espécie é muito parecida morfológicamente com *Gelidium crinale*, quando estéreis, podendo ser facilmente confundidas (Taylor, 1943). Atualmente essas espécies podem ser mais facilmente diferenciadas pelas características do estolão, ramificação, célula apical e do cistocarpo. Em *P. bartlettii*, o estolão é do tipo “peg-like”, podendo apresentar séries bilaterais de pequenos ramos na região mediana até o ápice do talo, o ápice é agudo com célula

apical proeminente e o cistocarpo unilocular, com o desenvolvimento do carposporófito ao redor de uma célula axial, enquanto em *G. crinale* o apressório é do tipo “brush-like”, a ramificação é irregular, o ápice é obtuso com célula apical proeminente e o cistocarpo bilocular, com o desenvolvimento do carposporófito em ambos os lados.

Os espécimes encontrados nesse trabalho concordam com a morfologia descrita por Ugadim (1985), Fernandes & Guimarães (1998), Thomas & Freshwater (2001), Sohrabipour *et al.*, (2013) e Iha (2014), onde as principais características são o talo de tamanho pequeno, ramificação irregular, ápice agudo, com célula apical proeminente, ausência de rizines no estolão, como observado pela maioria dos autores.



Figuras 132 – 138. *Pterocladia bartlettii*. 132 – Hábito. 133 – Detalhe do ramo. 134 – Ápice agudo, com célula apical proeminente (seta). 135 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo, mostrando poucos rizines entre a medula e o córtex interno (setas). 136 – Apressório do tipo “peg-like”. 137 – Corte transversal do estolão. 138 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais organizados paralelamente um ao outro, originados de células corticais internas (seta).



Figuras 139 – 146. *Pteroclatiella bartlettii*. 139 – Detalhe do hábito tetraspórico. 140 – Detalhe do ramo tetrasporangial, mostrando formação dos tetrasporângios em linhas (seta) e desenvolvimento acropetal. 141 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângios com divisão tetraédrica (seta). 142 – Carposporângio feminino. 143 – Detalhe do cistocarpo. 144 e 145 – Corte transversal do cistocarpo, mostrando a formação do gonimoblasto a partir de um eixo central (seta). 146 – Corte transversal do ramo espermatangial.

Pterocladia beachiae Freshwater, Phycologia 40: 346, 2001.

Localidade tipo: Cahuita, Limon, Costa Rica.

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan (MICH)

Figuras 147 – 160

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo escuro a esverdeado, medindo até 6,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “peg-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com eixo principal evidente, ramificação marginal pinada a irregular, formando ramos longos quando estéril e ramos curtos quando fértil. Base dos ramos laterais constricta. Ápice dos ramos obtuso, com célula apical entre dois lobos corticais. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros. Estolões cilíndricos a compressos, 194-265 μm de espessura e 300-347 μm de largura, formados por uma medula de nove a onze camadas de células circundada por três a cinco camadas de células corticais. Quantidade razoável de rizines no estolão, presentes entre a região medular e córtex interno ou dispersos na medula. Ramos eretos cilíndricos na base, 224-373 μm de diâmetro, tornando-se achatado em direção ao ápice, 75-114 μm de espessura e 397-1478 μm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo principal, medula com sete a nove camadas de células, envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 3-5 μm de altura e 6-10 μm de largura. Células medulares circulares, com paredes espessas, 11-19 μm de diâmetro. Grande quantidade de rizines, 4-5 μm de diâmetro, localizados na região medular. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais e subterminais dos ramos laterais. Podem apresentar ao não margens estéreis arredondadas. Tetrasporângios possuem desenvolvimento acropetal. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente, ovoides a globoides, 23-25 μm de largura e 24-37 μm de comprimento. Plantas gametofíticas monoicas, com cistocarpos e espermatângios localizados nos mesmos ramos ou em ramos diferentes, localizados nas regiões terminais ou subterminais dos ramos. Cistocarpos uniloculares, com um único ostíolo. Carpospônios fertilizados dão origem a filamentos gonimoblásticos que crescem ao redor da célula axial. Carposporângios são produzidos para os lados restantes da cavidade. O pericarpo é composto por três a quatro camadas de células corticais. Soros espermatangiais encontrados nos ramos de última ordem e em ambas as superfícies dos cistocarpos. Espermatângios presentes em uma ou ambas as superfícies do ramo fértil. Espermatângios dividem-se transversalmente formando o espermacio.

Material Examinado

Brasil. Ceará: Camocim, Praia do Farol, 12.III.2012, L. Soares (SP468821), 24.VI.2013, M. T. Fujii e D. Milstein (SP469113); Paracuru, Praia de Munguba, 24.IV.2013, C. A. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto (SP469114); Caucaia, Praia do Pacheco, 26.IV.2013, C. A. A. Azevedo; P. B. Carneiro; T. Vieira-Pinto; B. N. Torrano-Silva (SP469115); Icapuí, Praia de Ponta Grossa, 27.IV.2013, C. A. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto (SP469116). Rio Grande do Norte: São Miguel do Gostoso, Praia do Cardeiro, 29.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469117), Praia de Tourinhos, 29.III.2013, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469118); Natal, Praia do Meio, 17.X.2012, S. M. P. B. Guimarães (SP469119). Paraíba: Baía da Traição, Praia Baía da Traição, 31.III.2014, M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto (SP469120). Pernambuco: Recife, Praia de Boa Viagem, 15.III.2013, M. T. Fujii (SP469121); Ipojuca, Praia de Muro Alto, 19.IX.2013, M. T. Fujii (SP469122), Praia de Porto de Galinhas, 02.IX.2013, S. M. P. B. Guimarães (SP469123); Tamandaré, Praia de Tamandaré, 18.IX.2013, M. T. Fujii (SP469124). Alagoas: Marechal Deodoro, Praia do Francês, 10.III.2013, C. A. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto (SP469125). Bahia: Mata de São João, Praia do Forte, 25.IX.2010, J. M. Nunes (SP469126); Camaçari, Praia de Jauá, 23.V.2013, M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469127); Vila do Atlântico, Praia de Villa do Atlântico, 12.VII.2010, J. M. Nunes (SP469128); Salvador, Stella Maris, 13.XII.2011, J. M. Nunes (SP469103); Serra Grande, Praia de Serra Grande, 18.IV.2011, J. M. Nunes (SP469112); Prado, Praia do Tororão, 14.V.2014, B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos (SP469092); Ilha de Itaparica, Praia da Penha, 29.IV.2010, S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya (SP469096), Praia da Coroa, 24.V.2013, M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto (SP469097).

Distribuição para o Brasil

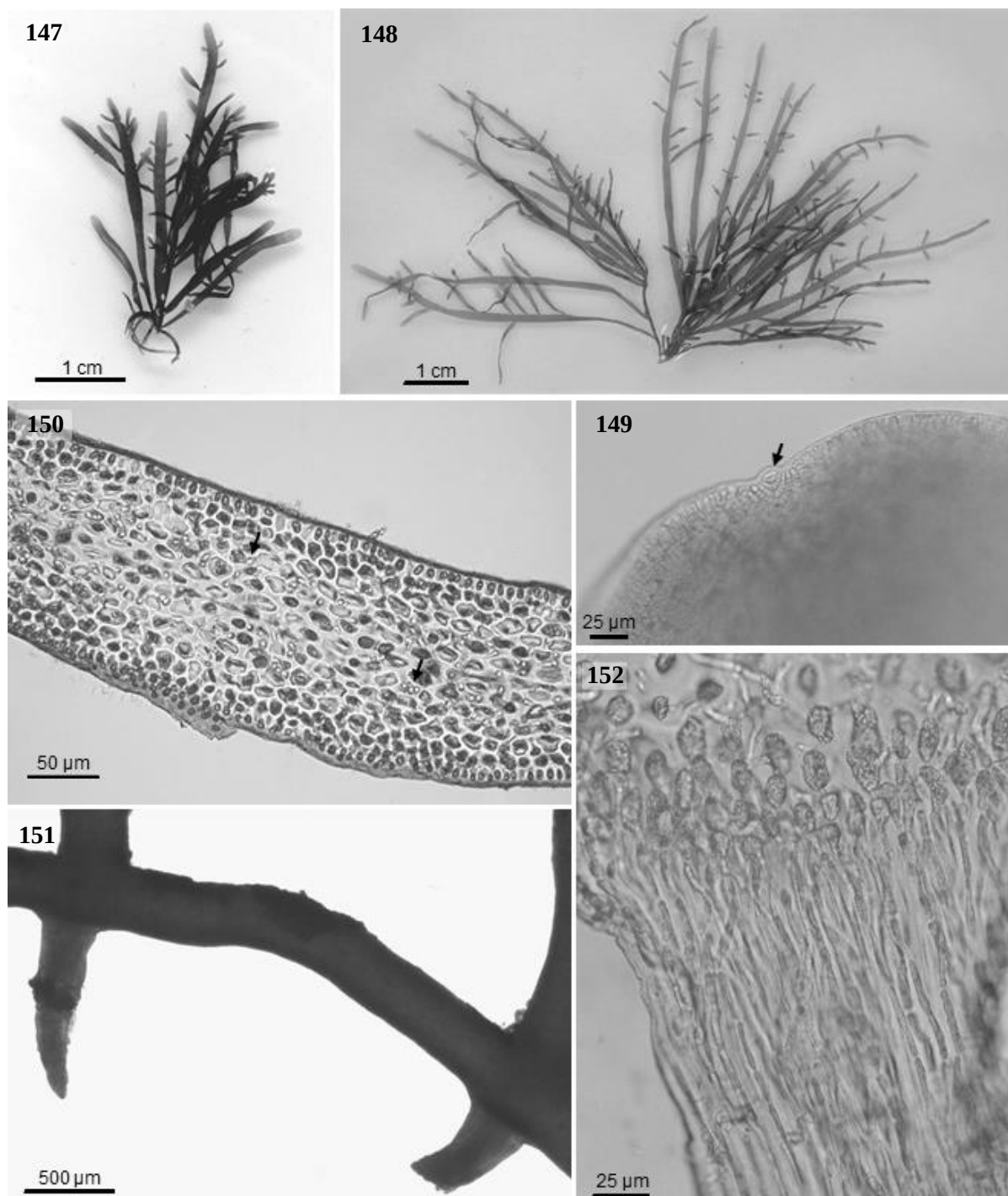
Espírito Santo (Iha, 2014; Guimarães, 2015), Rio de Janeiro (Iha, 2014; Guimarães, 2015), São Paulo (Iha, 2014; Guimarães, 2015).

Comentários

Pterocradiella beachiae foi originalmente descrita por Thomas e Freshwater (2001) com base em material coletado na Costa Rica. Tronchin & Freshwater (2007) propuseram a formação do complexo *P. 'caerulescens'*, entre as duas espécies, alegando que as diferenças muito sutis na morfologia não eram suficientes para separá-las. Posteriormente, Freshwater *et al.* (2010) realizaram estudo com base em caracteres moleculares incluindo amostras de

diversas localidades, distinguindo definitivamente essas duas espécies, e ainda propondo uma nova espécie, *P. australafricanensis* E.M. Tronchin & D.W. Freshwater para as amostras provenientes da África do Sul. Concluíram que as amostras do Hawaii pertencem a *P. caerulescens* enquanto as do Caribe pertencem a *P. beachiae*.

As características morfológicas encontradas concordam com a descrição original de *Pterocliadiella beachiae* e com as descrições apresentadas por Sohrabipour *et al.* (2013) e por Iha (2014). Assim como na descrição original de Thomas & Freshwater (2001), foram observados soros espermatangiais na superfície do cistocarpo.



Figuras 147 – 152. *Pterocladia beachiae*. 147 e 148 – Hábito. 149 – Célula apical entre lobos (seta). 150 – Detalhe do corte transversal da região mediana do talo vegetativo, mostrando rizines na região medular (setas). 151 – Apressório do tipo “peg-like”. 152 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais organizados paralelamente um ao outro, originados de células corticais internas.

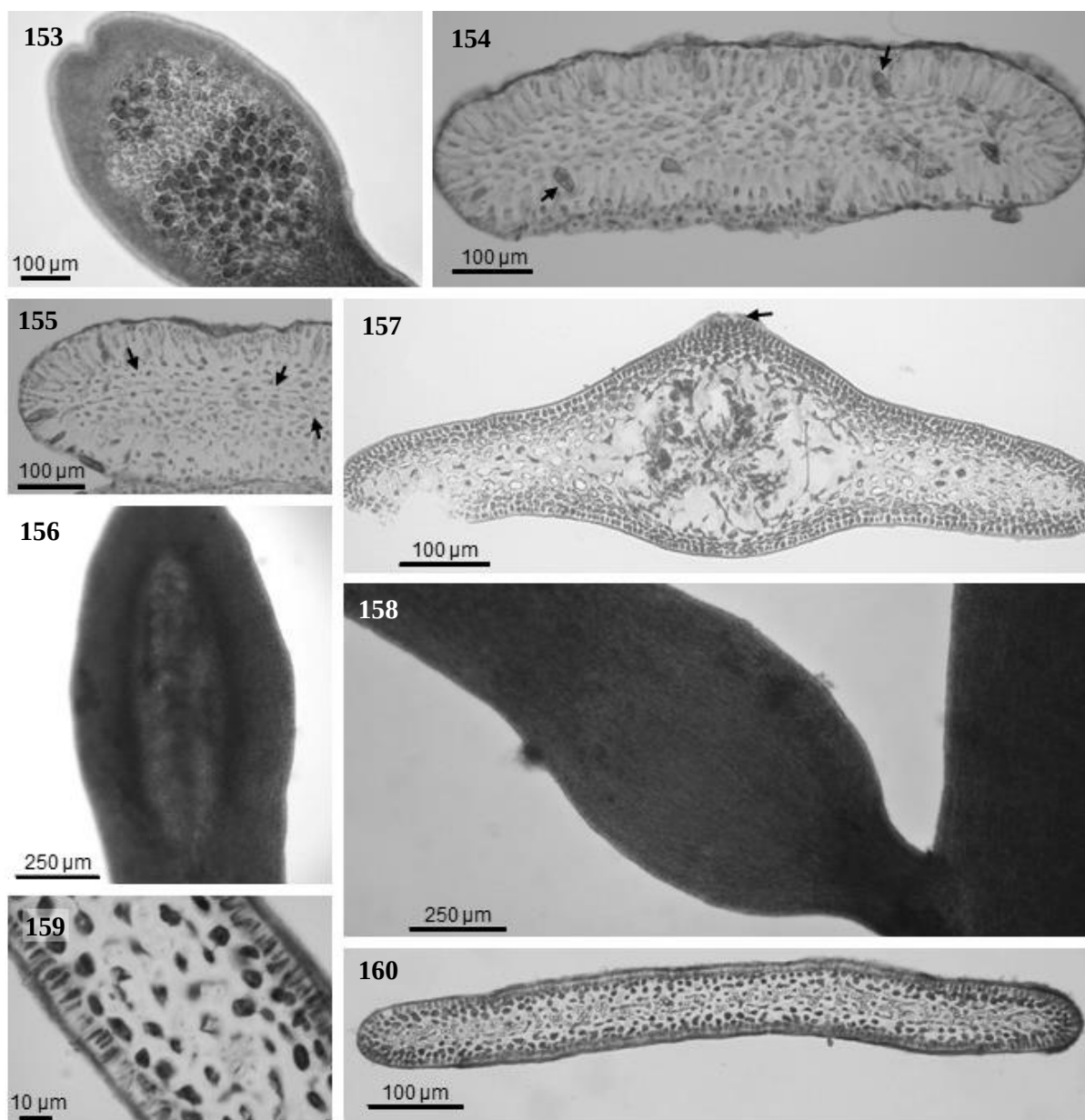


Figura 153 – 160. *Pterocliadiella beachiae*. 153 – Detalhe do ramo tetrasporangial. 154 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângios (setas). 155 – Detalhe do corte, mostrando ausência de margem estéril e rizines distribuídos na medula (setas). 156 – Detalhe do ramo feminino, mostrando cistocarpo. 157 – Corte transversal do cistocarpo, mostrando a formação do gonimoblasto a partir de um eixo central, um ostíolo (seta), além de longas abas laterais. 158 – Soro espermatangial. 159 – Detalhe do corte transversal do soro de espermatângios. 160 – Corte transversal do soro de espermatângios.

Pterocladella sp.

Figuras 161 – 169

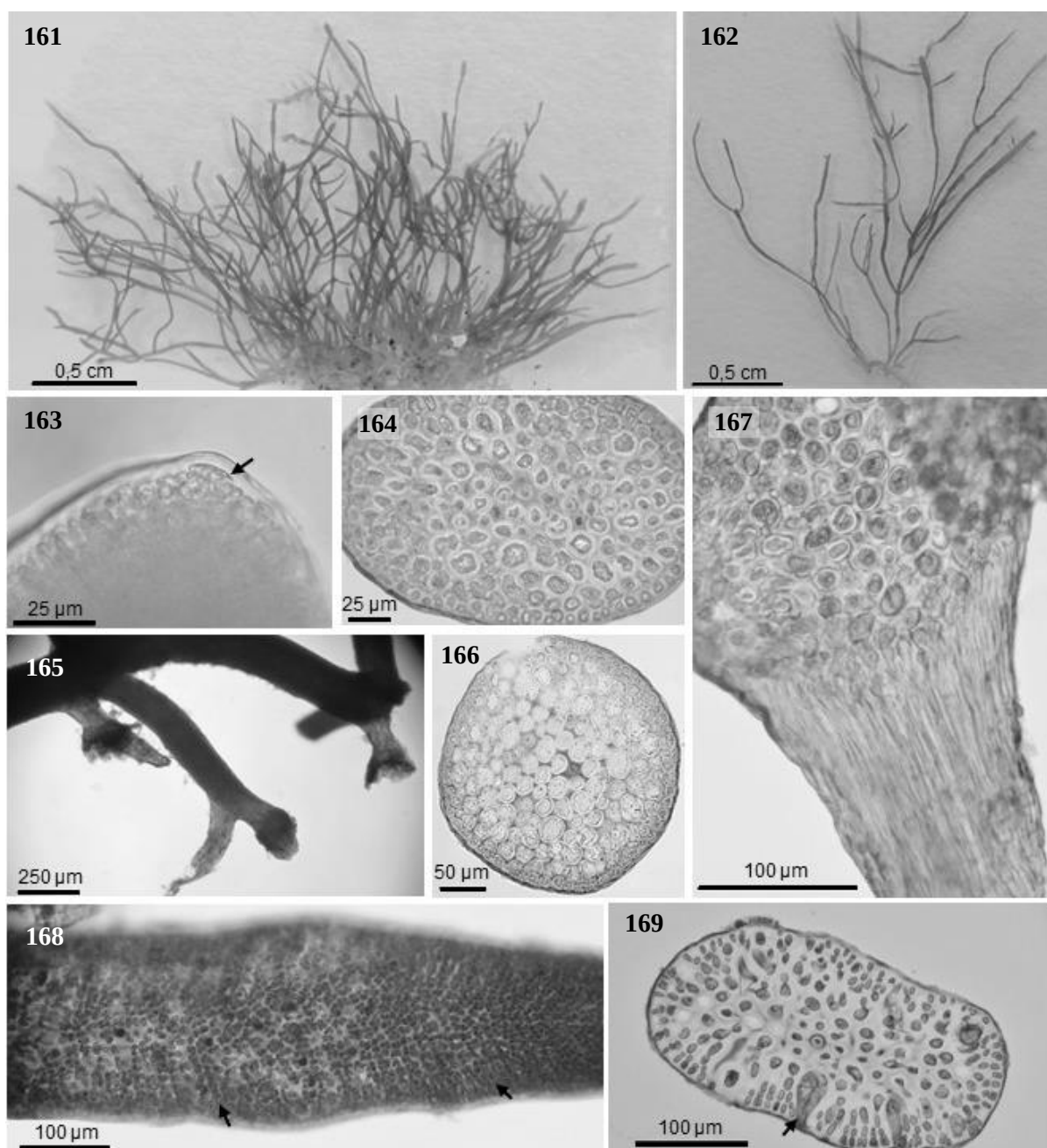
Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo “peg-like”, produzidos a partir de uma base estolonífera. Eixos eretos com ramificação esparsa a irregular. Base dos ramos laterais constrita. Ápice dos ramos obtuso, com célula apical proeminente. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros. Estolões cilíndricos, 248-285 µm de diâmetro, formados por uma medula de 9-10 camadas de células circundada por 2-3 camadas de células corticais. Em corte transversal ao estolão, células da camada cortical e células medulares são circulares. Raríssimos rizines. Ramos eretos vegetativos cilíndricos na base, tornando-se compressos em direção ao ápice, 142-164 µm de espessura e 233-259 µm de largura. Em corte transversal na região mediana do talo, medula com cinco a seis camadas de células, envolvida por duas a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 7-10 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 7-18 µm de diâmetro. Raríssimos rizines na região da medula. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais dos ramos. Podem ou não apresentar pequenas margens estéreis. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetalmente, arranjados em fileiras paralelas nítidas e em forma de da letra V aberta. Tetrasporângios maduros divididos cruciadamente, ovóides, 29-35 µm de largura e 44-55 µm de comprimento. Não foram observadas plantas gametofíticas.

Material Examinado

Brasil. São Paulo: Ilha Bela, Praia do Curral, 31.VIII.2012, S. M. P. B. Guimarães (SP469099)

Comentários

A espécie *Pterocladella* sp. apresentou características morfológicas muito semelhantes a espécie *P. bartlettii*, podendo ser separadas pelo ápice. A primeira espécie apresenta ápice obtuso com célula apical proeminente, enquanto na segunda espécie o ápice é agudo, com célula apical bem evidente. Essa espécie foi encontrada apenas no estado de São Paulo, enquanto *P. bartlettii* foi encontrada ao longo de toda costa do nordeste brasileiro.



Figuras 161 – 169. *Pterocladia* sp.. 161 – Hábito. 162 – Detalhe do ramo. 163 – Célula apical proeminente (seta). 164 – Corte transversal na região mediana do ramo vegetativo. 165 – Apressório do tipo “peg-like”. 166 – Corte transversal do estolão. 167 – Corte transversal do ramo estolonífero e longitudinal do apressório, mostrando os filamentos rizoidais organizados paralelamente um ao outro, originados de células corticais internas. 168 – Detalhe do ramo tetrasporangial, mostrando formação dos tetrasporângios formando linhas (setas). 169 – Corte transversal do ramo tetrasporangial, mostrando tetrasporângio (seta).

4.3 Discussão Geral

Baseando-se nas análises moleculares e morfológicas, no presente trabalho foram identificadas 14 espécies de Gelidiales, *Gelidiella acerosa*, *Ge. ligulata*, *Gelidium crinale*, *G. floridanum*, *G. microdenticum*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3, *Gelidium* sp. 4, *Parviphycus trinitatensis*, *Parviphycus* sp., *Pterocliadiella bartlettii*, *P. beachiae* e *Pterocliadiella* sp.

As análises realizadas com os marcadores moleculares UPA, *cox1* e *rbcL* corroboraram a distinção destas espécies, com exceção de *Parviphycus* sp., devido à ausência de material para estudos moleculares.

Após a separação das espécies com os marcadores moleculares foram realizados estudos morfológicos para selecionar os caracteres diagnósticos de cada espécie. Com base nesses caracteres foram confirmadas as 13 espécies de Gelidiales, incluindo *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1, que foram consideradas crípticas por não apresentarem diferenças morfológicas bem definidas. Estas identificações foram corroboradas com os marcadores moleculares utilizados. Além destas, uma espécie não identificada em nível específico de *Parviphycus* foi encontrada, mas sem condições de análises moleculares.

As principais características determinantes para separar as espécies de Gelidiales neste trabalho foram: hábito; formato dos ramos, variando de filiforme à foliáceo; ramificação, sendo ausente ou esparsa à pinada regular, e altura dos ramos, de 0,5 cm à 12,5 cm. A comparação das características morfológicas diagnósticas de cada espécie é mostrada na tabela 21.

Tabela 21. Comparação das características morfológicas diagnósticas de Gelidiales identificadas neste trabalho.

Características	<i>Ge. acerosa</i>	<i>Ge. ligulata</i>	<i>Pa. trinitatensis</i>	<i>Parviphycus</i> sp.	<i>G. crinale</i>	<i>G. floridanum</i>	<i>G. microdenticum</i>
Cor	vermelho vináceo escuro a enegrecido	vermelho vináceo claro	vermelho escuro	vermelho escuro	vermelho vináceo escuro a enegrecido	vináceo	vermelho vináceo a enegrecido
Altura (cm)	9,5	6,0	1,3	1,0	3,5	7,5	0,5
Ramificação	pinada oposta	ausente ou raramente irregular	esparsa e irregular	ausente ou raramente irregular	irregular	pinada a partir dos dois terços do talo, podendo ser alternada ou irregular	ausente ou raramente oposta a irregular
Base dos ramos laterais	não constrita	não constrita	constrita	-	não constrita	constrita	constrita
Ápice	obtusos	obtusos	agudo	agudo	obtusos ou agudo	obtusos	obtusos
Célula apical	proeminente	pouco diferenciada das demais	proeminente	proeminente	proeminente	entre dois lobos	entre dois lobos
Estrutura de fixação	filamentos rizoidais independentes	filamentos rizoidais independentes	filamentos rizoidais independentes	filamentos rizoidais independentes	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “brush-like”
Formato do ramo	cilíndricos	foliáceos, achatados	compressos	compressos	filiformes, cilíndricos ou compressos	achatado	foliáceos, achatados
Dimensão do ramo: espessura x largura (µm)	622-727	195 x 1616	78-87 x 108-142	49-65 x 767-101	152-203 x 332-611	156 x 825	69-72 x 928-939
Rizines	ausente	ausente	ausente	ausente	grande quantidade entre a medula e córtex	grande quantidade na medula	grande quantidade na medula
Tetrasporângios (µm)	tetraédricos, 22-43 x 40-63	-	tetraédricos, 27-29	-	cruciados, 19-27 x 43-53	tetraédricos, 23-27 x 36-41	tetraédricos, 22-26 x 30-34
Cistocarpos	-	-	-	-	-	biloculares	-

Continuação tabela 21.

Características	<i>Gelidium</i> sp. 1	<i>Gelidium</i> sp. 2	<i>Gelidium</i> sp. 3	<i>Gelidium</i> sp. 4	<i>P. bartlettii</i>	<i>P. beachiae</i>	<i>Pterocliadiella</i> sp.
Cor	vermelho vináceo a enegrecido	vermelho vináceo	vermelho vináceo	vermelho escuro	vermelho vináceo	vermelho vináceo escuro a esverdeado	vermelho vináceo
Altura (cm)	3,4	7,0	2,0	12,,5	2,2	6,0	2,0
Ramificação	ausente ou esparsa a abundante, irregular	esparsa, irregular	irregular a oposta	oposta, pinada	ausente ou pinada a irregular, podendo apresentar séries bilaterais de pequenos ramos	pinada a irregular	esparsa a irregular
Base dos ramos laterais	não constrita	constrita	constrita	constrita	constrita	constrita	constrita
Ápice	obtusos	agudo a obtuso levemente	agudo	obtusos	agudo	obtusos	obtusos
Célula apical	proeminente	proeminente entre lobos	proeminente	entre dois lobos corticais	proeminente	entre dois lobos corticais	proeminente
Estrutura de fixação	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “brush-like”	apressório tipo “peg-like”	apressório tipo “peg-like”	apressório tipo “peg-like”
Formato do ramo	compressos a achatados	fita	achatados	achatados	compressos	achatado	compressos
Dimensão do ramo: espessura x largura (µm)	47-209 x 307-1291	134-141 x 818-820	38-77 x 315-642	235-241 x 1147-1689	146-152 x 212-213	75-114 x 397-1478	142-164 x 233-259
Rizines	grande quantidade na medula, raramente entre a medula e o córtex interno	grande quantidade na medula	grande quantidade na medula	grande quantidade entre a medula e o córtex	poucos na medula	grande quantidade na medula	raríssimos na medula
Tetrasporângios (µm)	cruciados, 16-30 x 23-52	-	cruciados, 36-39 x 29	tetraédricos, 20-37 x 40-50	tetraédricos, 25-31 x 38-45	tetraédricos, 23-25 x 24-37	cruciados, 29-35 x 44-55
Cistocarpos	bilocular	-	bilocular	-	uniloculares	uniloculares	-

No presente trabalho, a família Gelidiaceae foi a mais representativa, apresentando o maior número de espécies. A identificação de *Gelidium crinale* foi confirmada pela biologia molecular, agrupando com uma sequência disponível no banco de dados, provenientes dos Estados Unidos. As espécies *G. floridanum* e *G. microdenticum* foram identificadas com base em suas características morfológicas e de distribuição geográfica. Além dessas, quatro espécies de *Gelidium* foram identificadas apenas em nível de gênero. *Gelidium* sp. 1 é considerada críptica junto com *G. crinale*. *Gelidium* sp. 2 e *Gelidium* sp. 3 não agruparam com nenhuma das sequências disponível no banco de dados e suas morfologias não se assemelham com nenhuma das espécies já descritas até o presente. Por serem espécies raras, podem se tratar de espécies novas, que passaram despercebidas em estudos anteriores. *Gelidium* sp. 4, se assemelha morfológicamente com *G. coarctatum*. Entretanto, Iha (2014) por comparação molecular concluiu que o material tipo de *G. coarctatum* pertence a *G. capense*, nativa da África do Sul, e a espécie brasileira é distinta desse grupo, pois as sequências não se agrupam com a espécie africana. *Gelidium* sp. 4 tem ampla distribuição, principalmente no nordeste do Brasil e foi outrora equivocadamente identificada como *Gelidium coarctatum*, mas em breve deverá receber um novo epíteto específico.

Pterocladia *bartlettii* e *P. beachiae* (Pterocladaceae) puderam ser facilmente diferenciadas por meio de características da taxonomia clássica e foram confirmadas através do estudo molecular, em comparação com as amostras da Malásia e da Costa Rica, respectivamente. *Pterocladia* sp. não agrupou com as sequências disponíveis no banco de dados, embora morfológicamente se apresentou muito semelhante a *P. bartlettii*, exceto no formato dos ápices e nas células apicais que se mostraram diferentes, a divergência genética destas espécies ficou em 1,4-1,6% para UPA, que é considerado suficiente para diferenciar táxons em nível específico.

As espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1 se mostraram intimamente relacionadas em ambos os estudos, moleculares e morfológicos. Os valores de divergência interespecífica para os marcadores utilizados (UPA, *cox1* e *rbcL*) foram os menores encontrados neste trabalho (0,5; 5,5; 0,9% respectivamente) (Tabela 22). Entretanto, o valor da divergência intraespecífica para o marcador *cox1* foi de 3,3% em *Gelidium* sp. 1, que é maior que os valores considerados por Kim & Boo (2012) e Freshwater *et al.* (2010), de até 2,75% e 2,65%, respectivamente, para *G. crinale*. A morfologia dessas duas espécies também não apresentou diferenças significativas devido à grande plasticidade fenotípica, sobrepondo os caracteres morfológicos entre as espécies. Portanto, devido à alta divergência encontrada para o marcador *cox1* (5,5 – 6,7%), e ao valor de barcoding gap, 1,57 vezes, mostrando que não há sobreposição dos valores intra e

interespecíficos, as espécies foram consideradas crípticas, sendo *Gelidium* sp. 1 possivelmente uma espécie nova para a ciência.

Gelidium crinale é considerada cosmopolita e apresenta grande plasticidade morfológica, além de alto valor de divergência intraespecífica (Shimada *et al.*, 1999; Freshwater *et al.*, 2010; Millar & Freshwater, 2010; Kim & Boo, 2012). A grande plasticidade morfológica dificulta a identificação taxonômica, sendo necessários mais estudos para confirmar se os espécimes que divergem são da mesma espécie ou pertencem a espécies diferentes. Amostras brasileiras identificadas anteriormente como *G. crinale* devem ser revisadas.

Tabela 22. Valores de divergência para os marcadores UPA, *cox1* e *rbcL* para *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1. Divergência intraespecífica indicada em negrito. Porcentagem de divergência indicada na porção inferior e número de nucleotídeos divergentes indicados na porção superior.

	<i>G. crinale</i>			<i>Gelidium</i> sp. 1		
	UPA	<i>cox1</i>	<i>rbcL</i>	UPA	<i>cox1</i>	<i>rbcL</i>
<i>G. crinale</i>	0%	0 - 0,2%	0 - 0,4%	2 - 4	33 - 40	12 - 15
<i>Gelidium</i> sp. 1	0,5 - 1,1%	5,5 - 6,7%	0,9 - 1,1%	0,5%	0 - 3,5%	0 - 0,7%

4.4 Distribuição da ordem Gelidiales para o Brasil

O número de espécies da ordem Gelidiales que ocorrem no Brasil, citadas em trabalhos anteriores, é de 22. Após as análises deste trabalho, ficam referidas 25 espécies (Tabela 23). Destas, apenas 10 foram estudadas com base em dados morfológicos e moleculares descritos em Iha (2014) e no presente trabalho. As demais espécies que não foram confirmadas pela biologia molecular e necessitam de uma revisão taxonômica para o Brasil.

Tabela 23. Espécies de Gelidiales citadas para o Brasil após o presente estudo.

Especies	Estados	Referências	Comentário
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskål) Feldmann & Hamel	CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES, RJ, Atol das Rocas e Arq. Fernando de Noronha	Oliveira Filho & Ugadim (1976); Yoneshigue (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Silva (2010); Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho

<i>Gelidiella hancockii</i> E.Y. Dawson	SP	Ugadim (1974); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Gelidiella ligulata</i> E.Y. Dawson	RN, BA, ES, RJ, SP	Fernandes & Guimarães (1998); Nunes (2005); Silva (2010); Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho
<i>Gelidium americanum</i> (W.R. Taylor) Santelices	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, SP, SC	Joly (1965); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Araujo <i>et al.</i> (2008); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Gelidium coarctatum</i> Kützting	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Silva (2010); Pereira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).	Confirmada como sinônimo de <i>Gelidium capenses</i> por Iha (2014)
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	PA, MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, PR, SC, RS e Arq. Fernando de Noronha	Joly (1965); Ugadim (1974); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Silva (2010); Batista (2012); Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho
<i>Gelidium floridanum</i> W.R. Taylor	CE, PE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Ugadim (1974); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012); Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho
<i>Gelidium isabelae</i> W.R. Taylor	RN	Silva (2010).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Gelidium microdenticum</i> W.R. Taylor	ES, RJ, SP	Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho
<i>Gelidium pusillum</i> (Stackhouse) Le Jolis	CE, PB, PE, BA, RJ, SP, PR, SC e Arq.	Joly (1957, 1965); Ugadim (1974); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002);	Necessita de revisão taxonômica

	Fernando de Noronha	Araujo <i>et al.</i> (2008); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012).	
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G. Gmelin) P.C. Silva	CE, PB, PE, SE, BA, RJ, SP, PR, SC e Arq. Fernando de Noronha	Ugadim (1974, 1985); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Gelidium torulosum</i> Kützinger	PE, BA, ES, SP, PR, SC	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Pereira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Gelidium</i> sp. 1	PI, CE, RN, PE, BA	Este trabalho.	Possível espécie nova
<i>Gelidium</i> sp. 2	RN	Este trabalho.	Possível espécie nova
<i>Gelidium</i> sp. 3	PB, BA	Este trabalho.	Possível espécie nova
<i>Gelidium</i> sp. 4	PI, CE, RN, PB, AL, BA, ES	Este trabalho.	Possível espécie nova
<i>Parviphycus pannosus</i> (Feldmann) G. Furnari	CE, RJ, SP, SC	Joly (1965); Yoneshigue (1985); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Parviphycus setaceus</i> (Feldmann) Afonso-Carrillo, Sanson, Sangil & Diaz-Villa	BA, RN, Atol das Rocas	Oliveira Filho & Ugadim (1976); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Parviphycus trinitatensis</i> (W.R. Taylor) M.J. Wynne	CE, RN, BA, ES, RJ, SP, SC	Joly (1957, 1965); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Silva (2010); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares neste trabalho
<i>Parviphycus</i> sp.	CE, PE	Este trabalho.	Não foi possível a identificação da espécie
<i>Pterocladiaella australafricanensis</i> Tronchin & Freshwater	ES	Iha (2014); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Pterocladiaella bartlettii</i> (W.R. Taylor) Santelices	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, SC	Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Nunes (2005); Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por Iha (2014) e neste trabalho
<i>Pterocladiaella beachiae</i> Freshwater	ES, RJ, SP	Iha (2014); Guimarães (2015); este trabalho.	Identificação confirmada por dados morfológicos e moleculares por

			Iha (2014) e neste trabalho
<i>Pterocladia caerulea</i> (Kützing) Santelices & Hommersand	MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, RJ, SP, SC	Joly (1957); Ugadim (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Nunes (2005); Silva (2010); Guimarães (2015).	Necessita de revisão taxonômica
<i>Pterocladia capillacea</i> (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	CE, RN, ES, RJ, SP, PR, SC e Atol das Rocas	Joly (1957, 1965); Ugadim (1974; 1985); Yoneshigue (1985); Fernandes & Guimarães (1998); Oliveira <i>et al.</i> (2002); Brasileiro <i>et al.</i> (2009); Batista (2012); Iha (2014).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Pterocladia sanctarum</i> (Feldmann & G. Hamel) Santelices	RN, BA	Nunes (2005); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Pterocladia taylorii</i> (A.B. Joly) Santelices	RJ, SP	Joly (1957), Oliveira <i>et al.</i> (2002); Guimarães (2015).	Não foi encontrada nesse trabalho
<i>Pterocladia</i> sp.	SP	Este trabalho.	Possível espécie nova

A ordem Gelidiales se apresenta amplamente distribuída ao longo de toda costa brasileira. A figura 170 mostra um mapa com a distribuição das espécies de Gelidiales confirmadas pela morfologia e biologia molecular, encontradas no presente estudo e por Iha (2014). O litoral do estado do Espírito Santo foi o que apresentou maior número de espécies, com 10 espécies, seguido do estado do Ceará, com nove. Algumas das espécies foram encontradas apenas nas regiões sudeste e sul, onde predominam costões rochosos, enquanto outras espécies foram encontradas do estado do Piauí até o Espírito Santo, regiões mais caracterizadas por ambientes recifais.

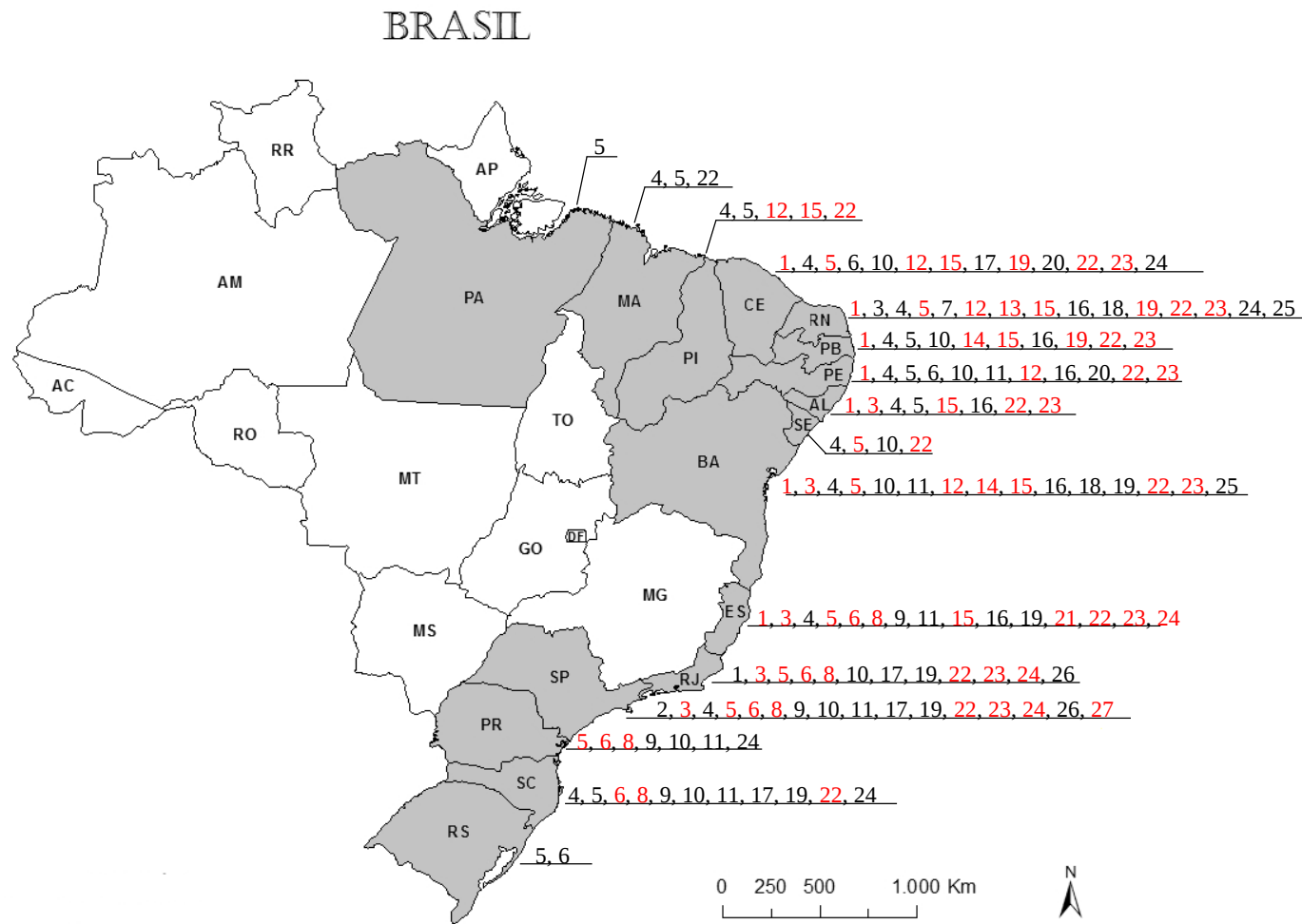
As espécies encontradas neste trabalho e por Iha (2014) que apresentam maior afinidade com ambientes mais frios e de costão rochoso foram *Gelidium floridanum* e *G. microdenticum*, encontradas entre os estados do Espírito Santo e Santa Catarina e *Pterocladia* sp. encontrada apenas no estado de São Paulo. Assim como no presente trabalho e no de Iha (2014), Ugadim (1985) encontrou *G. floridanum* apenas na região sudeste brasileira, sendo amplamente encontrada desde o estado do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul. *Pterocladia capillacea* não foi encontrada no nordeste, mas foi encontrada por Iha (2014) e Ugadim (1985) para a região sudeste e sul do Brasil.

Gelidiella acerosa e *Gelidium* sp. 4 foram amplamente encontradas no estado do Espírito Santo e ao longo do nordeste. A segunda espécie também foi encontrada por Ugadim

(1985) como *Gelidium coarctatum*. A autora comenta que *G. coarctatum* são plantas frequentes e abundantes no litoral do nordeste, assim como *Gelidium* sp. 1 encontrada neste trabalho.

Gelidium crinale, *Pterocladia bartlettii* e *P. beachiae* possuem ampla ocorrência no litoral brasileiro, sendo encontradas em vários tipos de ambiente. *G. crinale* foi referida em todos os estados do Brasil (Ugadim, 1985).

O esforço de coleta não foi homogêneo para cada estado, e não foram realizadas coletas no infralitoral. Mas acredita-se que os dados possam refletir a diversidade e distribuição das espécies de Gelidiales para a maior parte do Brasil, já que a distribuição das espécies encontradas no presente trabalho coincide com a apresentada por outros autores (Ugadim, 1985; Iha, 2014).



<i>Gelidiella acerosa</i>	1
<i>Gelidiella hancockii</i>	2
<i>Gelidiella ligulata</i>	3
<i>Gelidium americanum</i>	4
<i>Gelidium crinale</i>	5
<i>Gelidium floridanum</i>	6
<i>Gelidium isabelae</i>	7
<i>Gelidium microdenticum</i>	8
<i>Gelidium microdenticum</i> (= <i>G. pusillum</i> var. <i>conchicola</i>)	9
<i>Gelidium spinosum</i>	10
<i>Gelidium torulosum</i>	11
<i>Gelidium</i> sp. 1	12
<i>Gelidium</i> sp. 2	13
<i>Gelidium</i> sp. 3	14
<i>Gelidium</i> sp. 4	15
<i>Gelidium</i> sp. 4 (= <i>G. coarctatum</i>)	16
<i>Parviphycus pannosus</i>	17
<i>Parviphycus setaceus</i>	18
<i>Parviphycus trinitatensis</i>	19
<i>Parviphycus</i> sp.	20
<i>Pteroclatiella australafricanensis</i>	21
<i>Pteroclatiella bartlettii</i>	22
<i>Pteroclatiella beachiae</i>	23
<i>Pteroclatiella capillacea</i>	24
<i>Pteroclatiella sanctarum</i>	25
<i>Pteroclatiella taylorii</i>	26
<i>Pteroclatiella</i> sp.	27

Figura 170. Mapa de distribuição geográfica das espécies de Gelidiales. As espécies confirmadas pelos estudos morfológicos e moleculares neste trabalho e/ou por Iha (2014) estão assinaladas em vermelho.

5. CONCLUSÃO

Após as análises dos espécimes deste trabalho, ficam referidas para o Brasil 25 espécies de Gelidiales. Destas, dez foram confirmadas pela morfologia e biologia molecular, seis espécies foram identificadas em nível de gênero, representando potenciais espécies novas para a ciência e as demais espécies necessitam de uma revisão taxonômica.

As espécies pertencentes à família Gelidiellaceae, *Gelidiella acerosa*, *Ge. ligulata* e *Parviphycus trinitatis*, se mostraram distintas para todos os marcadores moleculares, com altos valores de divergência em UPA e *cox1*, apresentando um clado com alto valor de suporte na análise filogenética com *rbcL*. As características morfológicas analisadas foram suficientes para distingui-las assim como para *Parviphycus* sp.

A família Gelidiaceae foi a mais representativa para a região estudada, apresentando o maior número de espécies. Foram encontradas as espécies *Gelidium crinale*, *G. microdonticum*, *G. floridanum* e quatro espécies identificadas em nível de gênero, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 3 e *Gelidium* sp. 4. Com exceção de *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1, as outras cinco espécies tiveram as suas posições taxonômicas esclarecidas, apresentando altos valores de divergência interespecíficos e de suporte nos ramos com os marcadores moleculares. E também tiveram suas morfologias bem caracterizadas.

As espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1 foram consideradas espécies crípticas, sendo muito difícil separá-las apenas por estudo morfológico, sendo necessário o uso da ferramenta molecular. Estas espécies se mostraram muito próximas com os três marcadores moleculares utilizados. O marcador UPA apresentou uma baixa divergência interespecífica e houve sobreposição dos valores intra e interespecíficos nessas espécies. O marcador *cox1* apresentou divergência interespecífica suficiente para considera-las espécies distintas. Na análise filogenética a divergência interespecífica foi baixa, entretanto, este valor é próximo ao utilizado por outros autores para diferenciar espécies estreitamente relacionadas; além do que essas duas espécies formaram clados distintos, com alto valor de suporte.

Três espécies foram encontradas pertencentes a família Pterocladaceae, *Pterocladella bartlettii*, *P. beachiae* e *Pterocladella* sp. Estas foram bem caracterizadas pela morfologia. As análises moleculares também apresentam bons valores de divergência interespecífica e dos ramos filogenéticos, confirmando a separação dessas espécies.

A distribuição geográfica se mostrou uma boa ferramenta para auxiliar na identificação das espécies. Algumas delas mostraram maior afinidades com ambientes mais frios e de costão rochoso, sendo encontradas apenas no sudeste e sul do Brasil, como por exemplo *Gelidium*

floridanum, *G. microdenticum*, *Pterocladella capillacea* e *Pterocladella* sp. Enquanto outras apresentaram maior afinidade com ambientes mais quentes e recifais, sendo encontradas no estado do Espírito Santo e ao longo de todo o nordeste, como é o caso das espécies *Gelidiella acerosa*, *Gelidium* sp. 1, *Gelidium* sp. 4 e *Parviphycus trinitatensis*.

As ferramentas moleculares utilizadas, UPA, *cox1* e *rbcL*, foram de extrema importância para uma melhor delimitação das espécies. O marcador UPA, se mostrou muito conservado, havendo sobreposição entre os valores de divergência. Motivo pelo qual não pode ser considerado como “DNA barcode”, entretanto pode ser usado para uma primeira triagem, ou para a identificação em nível de gênero. O *cox1* se mostrou adequado para a distinção das espécies, sendo muito útil na detecção das espécies crípticas. Todas as sequências foram obtidas com apenas um par de *primers*, potencializando o uso do marcador para a ferramenta “DNA barcoding”. A análise filogenética, utilizando o marcador *rbcL*, mostrou ser uma ferramenta útil para confirmar as relações evolutivas das espécies encontradas.

REFERENCIAS

- Akatsuka, I.** 1986. Pterodadiastrum, a New Genus Segregated from Pterocladia (Gelidiales, Rhodophyta). *Bot Mar* XXIX, 51–58.
- Altschul, S.F.; Madden, T.L.; Schäffer, A.A.; Zhang, J.; Zhang, Z.; Miller, W. & Lipman, D.J.** 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389–3402.
- Araújo, P.G.; Miranda, G.E.C.; Kanagawa, A.I.** 2008. Repartição especial da comunidade macrobêntica dos recifes da APA da Barra do Rio Mamanguape, Paraíba, Brasil. *Rev. Nordestina Biol.*, 19(1): 29–50.
- Bailey, J.C. & Freshwater, D.W.** 1997. Molecular systematics of the Gelidiales: inferences from separate and combined analyses of plastid *rbcL* and nuclear SSU gene sequences. *Eur. J. Phycol.* 32: 343–352.
- Batista, M.B.** 2012. Macrófitas marinhas da Ilha de Santa Catarina, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- Boo, G.H.; Kim, K.M.; Nelson, W.A.; Riosmena-Rodríguez, R.; Yoon, K.J. & Boo, S.M.** 2013. Taxonomy and distribution of selected species of the agarophyte genus *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta). *J Appl Phycol.*
- Brasileiro, P.S.; Yoneshigue-Valentin, Y.; Bahia, R.; Reis, R.P. & Amado-Filho, G.M.** 2009. Algas marinhas bentônicas da região Cabo Frio e arredores: síntese do conhecimento. *Rodriguésia* 60, 39–66.
- Calendini, F. & Martin, J.F.** 2005. PaupUP v1.0.3.1 A free graphical frontend for Paup*. Dos software. Available from: <http://www.agro-montpellier.fr/sppe/Recherche/JFM/PaupUp/main.htm> (accessed: 24 October 2013).
- Chase, M.W.; Salamin, N.; Wilkinson, M.; Dunwell, J.M.; Kesanakurthi, R.P.; Haidar, N. & Savolainen, V.** 2005. Land plants and DNA barcoding: short-term and long-term goals. *Phil. Trans. R. Soc. B* 360.
- Clarkston, B.E. & Saunders, G.W.** 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthoratimburtonii* sp. nov. *Botany* 88: 119–131.
- Cordeiro-Marino, M.** 1978. Rodofíceas bentônicas marinhas do Estado de Santa Catarina. *Rickia* 7, 1–243.
- Costa, E.S.** 2013. Algas Gracilarióides (Gracilariaceae, Rhodophyta) na costa brasileira: Uma abordagem morfológica e molecular. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Costa, E.S.; Plastino, E.M.; Petti, R.; Oliveira, E.C. & Oliveira, M.C.** 2012. The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil—a DNA barcoding approach. *J Appl Phycol.*, Volume 24, Issue 6, pp 1643–1653.
- Creed, M.; Fujii, M.T.; Barros-Barreto, M.; Guimarães, S.M.P.B; Cassano, V.; Barreto-Pereira, S.M.; Oliveira-Carvalho, M.F. & Khader, S.** 2010. Rhodophyceae. In *Catálogo plantas e fungos do Bras*, Volume 1., pp. 416–436. Edited by R. C. Forzza. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Dawson, E.Y.** 1953. Marine Red Algae of Pacific Mexico. *Univ South Calif Press*, Allan Hancock Foundation publications of the University of Southern California. University of Southern California Press.
- Dixon, P.S.** 1958. The structure and development of the thallus in the British species of *Gelidium* and *Pterocladia*. *Ann. Bot. (n.s.)* 22: 353–368.
- Fan, K.C.** 1961. Morphological studies of the Gelidiales. University of California Press.
- Feldmann, J. & Hamel, G.** 1934. Observations sur quelques Gélidiacées. *Rev Générale Bot* 46, 528–549.
- Fernandes, S. & Guimarães, S.M.P.B.** 1998. Estudos taxonômicos de Gelidiales (Rhodophyta) do Estado do Espírito Santo, Brasil. In: Anais do IV Congresso Latino-Americano, II Reunião Ibero-Americana e VII Reunião Brasileira de Ficologia, Caxambu, MG, volume II, p.181–201.
- 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. & Hommersand, M.H.** 1995. A molecular phylogeny of the Gelidiales (Rhodophyta) based on analysis of plastid *rbcL* nucleotide sequences. *J. Phycol.* 31: 616–632.
- Freshwater, D.W.; Tudor, K.; O’Shaughnessy, K. & Wylor, B.** 2010. DNA barcoding in the red algal order Gelidiales: comparison of COI with *rbcL* and verification of the “barcoding gap”. *Cryptogamie, Algologie* 31: 435–449.
- Geraldino, P.J.L.; Yang, E.C. & Boo, S.M.** 2006. Morphology and Molecular Phylogeny of *Hypnea flexicaulis* (Gigartinales, Rhodophyta) from Korea. *Algae* Vol. 21(4): 417–423.
- Graham, L.E. & Wilcox, L.W.** 2009. *Algae*. Prentice-Hall, New Jersey. 640.
- Guimarães, N.R.** 2011. Diversidade do Gênero *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) do Estado de São Paulo Baseada em Marcadores Moleculares e Morfologia. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Guimarães, S.M.P.B.** 2015. *Gelidium* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB100205>>. Acesso em: 08 Mar. 2015.
- Guindon, S. & Gascuel, O.** 2003. A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst Biol* 52, 696–704.

- Guiry, M.** 1990. Sporangia and spores. (K. Cole and R.A. Sheath, eds) *Biology of the red algae*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 348–376.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M.** 2015. Algaebase. *Natl Univ Irel*.
- 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.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L. & DeWaard, J.R.** 2003. Biological identifications through DNA barcoding. *Proc. R. Soc. Lond, Biological Sciences* 270: 313–322.
- Hommersand, M.H. & Fredericq, S.** 1988. An investigation of cystocarp development in *Gelidium pteridifolium* with a revised description of the Gelidiales (Rhodophyta). *Phycologia* 27, 254–272.
- Iha, C.** 2014. Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) baseada em marcadores moleculares e estudos morfoanatômicos para região sudeste do Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Joly, A.B.** 1957. Contribuição ao conhecimento da flora ficológica marinha da baía de Santos e arredores. *Bol da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânica* 14, 1–196.
- Joly, A.B.** 1965. Flora marinha do litoral norte do Estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. *Bol da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânica etim da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânica* 21, 21–294.
- Kim, K.M. & Boo, S. M.** 2012. Phylogenetic relationships and distribution of *Gelidium crinale* and *G. pusillum* (Gelidiales, Rhodophyta) using *cox1* and *rbcL* sequences. *Algae* 27, 83–94.
- Kimura, M.** 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J MolEvol* 16:111–120.
- Kützing, F.T.** 1868. *Tabulae phycologicae*; oder, Abbildungen der tange, Bd. 18. Nordhausen: Gedruckt auf kosten des verfassers (in commission bei W. Köhne).
- Le Gall, L. & Saunders, G.W.** 2010. DNA barcoding is a powerful tool to uncover algal diversity: a case study of the Phylloporaceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the Canadian flora. *J. Phycol.* 46: 374–389.
- Lindstrom, S.C. & Fredericq, S.** 2003. *rbcL* gene sequences reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis*. *Phycol Res* 51, 211–224.
- Medeiros, A.S.** 2013. Diversidade de macroalgas da Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Península Antártica, baseada em “DNA barcoding” e outros marcadores moleculares. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Meier, R.; Zhang, G. & Ali, F.** 2008. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the “barcoding gap” and leads to misidentification. *Syst Biol* 57, 809–13.
- Millar, A.J.K. & Freshwater, D.W.** 2005. Morphology and molecular phylogeny of the marine algal order Gelidiales (Rhodophyta) from New South Wales, including Lord Howe and Norfolk Islands. *Aust Syst Bot* 18, 215–263.
- Milne, I.; Wright, F.; Rowe, G.; Marshall, D.F.; Husmeier, D. & McGuire, G.** 2004. TOPALi: software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments. *Bioinformatics* 20, 1806–7.
- Milstein, D. & Saunders, G.W.** 2012. DNA barcoding of Canadian Ahnfeltiales (Rhodophyta) reveals a new species – *Ahnfeltia borealis* sp. nov. *Phycologia* 51, 247–259.
- Milstein, D.; Medeiros, A.S.; Oliveira, E.C. & Oliveira, M.C.** 2011. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta) *J Appl Phycol* 24, 837–845.
- Nelson, W.A.; Farr, T.J. & Broom, J.E.S.** 2006. Phylogenetic Diversity of New Zealand Gelidiales as Revealed by *rbcL* Sequence Data. *J Appl Phycol* 18, 653–661.
- Norris, R.E.** 1992. A proposed phylogenetic scheme for the Gelidiales. *Taxon Econ seaweeds* 3, 151–172.
- Nunes, J.M.C.** 2005. Rodófitas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Nylander, J.A.A.** 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. *Evol Biol Centre, Uppsala Univ* 2.
- Okamura, K. & Kōshūjo, S.** 1934. On *Gelidium* and *Pterocladia* of Japan. *Imp Fish Inst* 29, 47–67. Tokyo.
- Oliveira, E.C.; Horta, P.A.; Amância, C.E. & Sant’anna, C.L.** 2002. Algas e angiospermas marinhas bêmicas do litoral brasileiro: diversidade, exploração e conservação. In *Avaliação e ações prioritárias para a Conserv da biodiversidade das Zo costeiras e Mar*, p. CD-ROM. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Oliveira Filho, E.C. & Ugadim, Y.** 1976. A survey of the marine algae of Atol das Rocas (Brazil). *Phycologia* 15, 41–44.
- Pereira, S.M.B.; Oliveira-Carvalho, M.F.; Angeiras, J.A.P.; Bandeira-Pedrosa, M.E.; Oliveira, N.M.B.; Torres, J.; Gestinari, L.M.S.; Cocentino, A.L.M.; Santos, M.D. & outros autores.** 2002. Marinhas Bentônicas do Estado de Pernambuco. In *Diagnóstico da Biodiversidade Pernambuco*, Vol. 1., pp. 97–124. Editado por M. Tabarelli & J. M. C. Silva. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente.
- Perrone, C.; Felicini, G.P. & Bottalico, A.** 2006. The prostrate system of the Gelidiales: diagnostic and taxonomic importance. *Bot Mar* 49, 23–33.
- Pueschel, C. & Cole, K.** 1982. Rhodophycean pit plugs: an ultrastructural survey with taxonomic implications. *Am J Bot* 69, 703–720.

- Rodriguez, D. & Santelices, B.** 1988. Separation of *Gelidium* and *Pterocladia* on vegetative characters. *Taxon Econ Seaweeds with Ref to ...* 2, 115–125.
- Roleda, M.A.; Ganzon-Fortes, E.T.; Montano, N.E. & De Los Reyes, F.N.** 1997. Temporal variation in the biomass, quantity and quality of agar from *Gelidiella acerosa* (Forsskal) Feldmann et Hamel (Rhodophyta: Gelidiales) from Cape Bolinao, NW Philippines. *Bot Mar.* 40: 487–495.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F. & Maniatis, T.** 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd editio. New York: Cold Spring Harbour Laboratories press.
- Santelices, B.** 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fisheries Synopsis* 145: 1–55.
- Santelices, B.** 1990. New and old problems in the taxonomy of the Gelidiales (Rhodophyta). In *Thirteen Int Seaweed Symp SE - 18*, Developments in Hydrobiology, pp. 125–135. Edited by S. Lindstrom & P. Gabrielson. Springer Netherlands.
- Santelices, B.** 1997. The spermatangial sorus of *Gelidiella acerosa* (Gelidiellaceae, Gelidiales). *Taxon Econ seaweeds with Ref to some Pacific species* 6, 77–87. California Sea Grant College Program La Jolla, CA.
- Santelices, B.** 1998. Taxonomic review of the species of *Pterocladia* (Gelidiales, Rhodophyta). *J Appl Phycol* 10, 237–252.
- Santelices, B.** 2004. *Parviphycus*, a new genus in the Gelidiellaceae. *Cryptogam Algol* 25, 313–326.
- Santelices, B.** 2007. Testing the usefulness of attachment structures in the taxonomy of small-sized gelidioids. *Phycologia* 46, 293–299.
- Santelices, B. & Flores, V.** 2004. Additional observations on spermatangial sori in *Gelidiella acerosa* (Gelidiellaceae, Gelidiales). *Taxon Econ seaweeds with Ref to Pacific other Locat* 9, 109–117. Hawaii Sea Grant College Program Honolulu, HI.
- Santelices, B. & Stewart, J.G.** 1985. Pacific species of *Gelidium* Lamouroux and other Gelidiales (Rhodophyta), with keys and descriptions to the common or economically important species. In *Taxon Econ seaweeds with Ref to some Pacific Carinnean species*, pp. 17–31. Edited by I. A. Abbott & J. N. Norris. La Jolla, CA: California Sea Grant College Program, University of California.
- Santos, S.; Hrbek, T.; Farias, I.P.; Schneider, H. & Sampaio, I.** 2006. Population genetic structuring of the king weak Wsh, *Macrodonan cylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Mol. Ecol.* 15: 4361–4373.
- Saunders, G.W.** 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360: 1879–1888.
- Saunders, G.W.** 2009. Routine DNA barcoding of Canadian Gracilariales (Rhodophyta) reveals the invasive species *Gracilaria vermiculophylla* in British Columbia. *Molecular Ecology Resources* 9 (Suppl. 1), 140–150.
- Saunders, G.W. & Hommersand, M.H.** 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *Amer. Journ. Bot.* 91(10): 1494–1507.
- Saunders, G.W. & McDevit, D.C.** 2012. Acquiring DNA sequence data from dried archival red algae (Florideophyceae) for the purpose of applying available names to contemporary genetic species: a critical assessment. *Botany* 90: 191–203.
- Saunders, G.W. & McDonald, B.** 2010. DNA barcoding reveals multiple overlooked Australian species of the red algal order Rhodymeniales (Florideophyceae), with resurrection of *Halopeltis* J. Agardh and description of *Pseudohalopeltis* gen. nov. *Botany* 88: 639–667.
- Schneider, C.W. & Wynne, M.J.** 2007. A synoptic review of the classification of red algal genera a half century after Kytlin's "Die Gattungen der Rhodophyceen". *Bot Mar.* 50: 197–249.
- Sherwood, A.R. & Presting, G.G.** 2007. Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in Eukaryotic algae and cyanobacteria. *Journal of Phycology* 43: 605–608.
- Sherwood, A.R.; Vis, M.L.; Entwisle, T.J.; Necchi Jr, O. & Presting, G.G.** 2008. Contrasting intra versus interspecies DNA sequence variation for representatives of the Batrachospermales (Rhodophyta): Insights form a DNA barcoding approach. *Phycological Research* 56: 269–279.
- Sherwood, A.R.; Kurihara, A.; Conklin, K.Y.; Sauvage, T. & Presting, G.G.** 2010a. The Hawaiian Rhodophyta biodiversity survey (2006–2010): a summary of principal findings. *BMC Plant Biology* 10: 258 (doi:10.1186/1471-2229-10-258).
- Sherwood, A.R.; Sauvage, T.; Kurihara, A.; Conklin, K.Y. & Presting, G.G.** 2010b. A comparative analysis of COI, LSU and UPA marker data for the Hawaiian florideophyte Rhodophyta: implications for DNA barcodins of red algae. *Cryptogamie, Algologie* 31 (4): 451–465.
- Shimada, S. & Masuda, M.** 1999. First report of *Gelidiella ligulata* (Gelidiales, Rhodophyta) in Japan. *Phycol Res* 47, 97–100.
- Shimada, S.; Horiguchi, T. & Masuda, M.** 1999. Phylogenetic affinities of genera *Acanthopeltis* and *Yatabella* (Gelidiales, Rhodophyta) inferred from molecular analyses. *Phycologia* 38: 528–540.
- Silva, F.N.** 2013. Filogenia molecular e diversidade do gênero *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) na costa brasileira. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

- Silva, I.B.** 2010. Algas marinhas bentônicas dos recifes e ambientes adjacentes de Maracajaú, APA dos Recifes de Corais, RN, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo.
- Sohrabipour, J.; Lim, P.; Maggs, C.A. & Phang, S.M.** 2013. Two new species and two new records of *Pterocladia* (Gelidiales) from Malaysia based on analyses of *rbcL* and *coxI* gene sequences. *Phycologia* 52, 517–537.
- Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J.** 2008. A Rapid Bootstrap Algorithm for the RAxML Web-Servers, *Systematic Biology*, 75(5): 758–771.
- Stewart, J.G.** 1968. Morphological variation in *Pterocladia pyramidale*. *J. Phycol.* 4:76–84.
- Swofford, D.L.** 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, version 4.08^a. *Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey*, Champaign, III.
- Tamura, K.; Dudley, J.; Nei M. & Kumar, S.** 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *MolBiol Evol* 24:1596–1599.
- Taylor, W.** 1943. Marine algae from Haiti collected by H. H. Bartlett in 1941. *Michigan Acad Sci.*
- Taylor, W.R.** 1969. Notes on the Distribution of West Indian Marine Algae Particularly in the Lesser Antilles: With a Bibliography of Recent Works on Eastern American Tropical Algae. Contributions from the University of Michigan Herbarium. Univ. Herbarium, University of Michigan.
- Thomas, D.T. & Freshwater, D.W.** 2001. Studies of Costa Rican Gelidiales (Rhodophyta): four Caribbean taxa including *Pterocladia beachii* sp. nov. *Phycologia* 40, 340–350.
- Tronchin, E.M. & Freshwater, D.W.** 2007. Four Gelidiales (Rhodophyta) new to southern Africa, *Aphanta pachyrrhiza* gen. et sp. nov., *Gelidium profundum* sp. nov., *Pterocladia caerulescens* and *P. psammophila* sp. nov. *Phycologia* 46, 325–348.
- Tseng, C.K.** 1981. Commercial cultivation. In *The Biology of Seaweeds*. Lobban, C. S. & Wynne, M. J., editors, 680–725. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Turner, D.** 1819. *Fuel*, Vol. 4, (4) + 153 + (3) + 7 pp., p/s., 197–258. London.
- Ugadim, Y.** 1970. Algas Marinhas Bentônicas do Litoral Sul do Estado de São Paulo e do Litoral do estado do Paraná. São Paulo. Universidade de São Paulo.
- Ugadim, Y.** 1974. Algas Marinhas Bentônicas do Litoral Sul do Estado de São Paulo e do Litoral do estado do Paraná. III - Divisão Rhodophyta (1) Goniotricales, Bangiales, Nemaniales e Gelidiales. *Bol Botânica, Univ São Paulo* 2, 93–137.
- Ugadim, Y.** 1985. Estudos taxonômicos de *Gelidium* e *Pterocladia* (Gelidiales-Nemaliales-Rhodophyta) do Brasil. Universidade de São Paulo.
- Ugadim, Y.** 1988. Estudo comparado de *Gelidium coarctatum* Kützting e *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Bornet et Thuret (Rhodophyta-Gelidiaceae) no litoral brasileiro. *Gayana Botânica* 45, 203–223.
- Voloch, C.M. & Solé-Cava, A.M.** 2005. Genetic structure of the sea-bob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri* Heller, 1862; Decapoda, Penaeidae) along the Brazilian southeastern coast. *Genet. Mol. Biol.* 28: 254–257.
- Womersley, H.B.S.** 1994. The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part IIIA. Bangiophyceae and Florideophyceae (Acrochaetiales, Nemaliales, Gelidiales, Hildenbrandiales and Gigartinales sensu lato). Australian Biological Resources Study, Canberra.
- Wynne, M.J.** 2010. The transfer of *Gelidiella trinitatis* W.R.Taylor (Gelidiales, Rhodophyta) to *Parviphycus*. *Feddes Repert* 121, 156–162.
- Yoon, H.S.; Müller, K.M.; Sheath, R.G.; Ott, F.D. & Bhattacharya, D.** 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *J. Phycol.* 42: 482–492.
- Yoon, H.S.; Zuccarello, G. C. & Bhattacharya, D.** 2010. Evolutionary history and taxonomy of red algae. In: J. Seckbach & D. J. Chapman (eds.). *Red Algae in the Genomic Age. Cellular Origin, Live on Extreme Habitats and Astrobiology*, vol 13. Springer, pp. 27–42.
- Yonshigue, Y.** 1985. Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Bresil). Tese de Doutorado, Faculté des Sciences de Luminy. France, Marseille.

ANEXO

Anexo 1. Listagem detalhada das amostras coletadas neste trabalho e indicação dos marcadores moleculares sequenciados por amostra.

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>Gelidiella acerosa</i>	SP469041	IBT1562	Praia do Farol, Camocim. M. T. Fujii; D. Milstein. 24.VI.2013	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	-	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469042	IBC0596	Praia de Munguba, Paracuru. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	-	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469042	IBC0598	Praia de Munguba, Paracuru. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	-	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469043	IBT1689	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469044	IBT1694	Praia de Tourinhos, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°5'59.37"S/ 35°42'57.94"O	-	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469045	IBT1701	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469046	IBT1718	Praia de Carapibus, Conde. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 01.IV.2014	PB	7°17'57.01"S/34°47'57.35"O	X	X	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469047	IBT0547	Enseada dos Corais, Cabo. S. M. P. B. Guimarães. 27.IX.2011	PE	8°19'31.87"S/ 34°56'57.10"O	X	X	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469048	IBC0589	Praia do Francês, Marechal Deodoro. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 10.III.2013	AL	09°46'15.05"S/35°50'25.09"O	X	X	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469048	IBC0593	Praia do Francês, Marechal Deodoro. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 10.III.2013	AL	09°46'15.05"S/35°50'25.09"O	X	-	X
<i>Ge. acerosa</i>	SP469049	IBT1529	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	X	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469049	IBT1530	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469049	IBT1532	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469049	IBT1533	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469050	IBT0348	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	-	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>Ge. acerosa</i>	SP469051	IBT1539	Praia da Coroa, Ilha de Itaparica, Vera Cruz. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 24.V.2013	BA	13°0'21.72"S/38°38'14.87"O	X	-	-
<i>Ge. acerosa</i>	SP469051	IBT1541	Praia da Coroa, Ilha de Itaparica, Vera Cruz. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 24.V.2013	BA	13°0'21.72"S/38°38'14.87"O	X	-	X
<i>Ge. ligulata</i>	SP469052	IBT1690	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	X	-
<i>Ge. ligulata</i>	SP469053	IBT1531	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>Parviphycus trinitatis</i>	SP469054	IBC0599	Praia de Munguba, Paracuru. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	X	X	X
<i>Pa. trinitatis</i>	SP469055	IBT1698	Praia de Tourinhos, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°5'59.37"S/ 35°42'57.94"O	X	-	-
<i>Pa. trinitatis</i>	SP469056	IBT1866	Ponta dos Aneis, Maracajaú. I. B. Silva. 04.X.2009	RN	5°25'1.90"S/ 35°18'14.67"O	-	-	-
<i>Pa. trinitatis</i>	SP469057	IBT1723	Praia do Meio, Natal. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 02.IV.2014	RN	5°46'13.66"S/35°11'40.27"O	X	X	-
<i>Pa. trinitatis</i>	SP469058	IBT1720	Praia de Carapibus, Conde. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 01.IV.2014	PB	7°17'57.01"S/34°47'57.35"O	X	X	-
<i>Parviphycus</i> sp.	SP469059	IBT1635	Praia da Munguba, Paracuru. B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	-	-	-
<i>Parviphycus</i> sp.	SP469060	IBT1617	Praia de Porto de Galinha, Ipojuca. S. M. P. B. Guimarães. 02.IX.2013	PE	8°30'26.00"S/ 34°59'59.95"O	-	-	-
<i>Gelidium crinale</i>	SP469061	IBC0595	Praia de Munguba, Paracuru. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	X	X	-
<i>G. crinale</i>	SP469061	IBC0600	Praia de Munguba, Paracuru. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	X	X	X
<i>G. crinale</i>	SP469062	IBT1705	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	-
<i>G. crinale</i>	SP469062	IBT1707	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	-	-
<i>G. crinale</i>	SP469063	IBT1722	Praia do Meio, Natal. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 02.IV.2014	RN	5°46'13.66"S/35°11'40.27"O	X	-	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>G. crinale</i>	SP469064	IBT1663	Aracaju, Barra dos Coqueiros. M. T. Fujii. 03.I.2014	SE	10°56'17.43"S/ 37°1'4.45"O	X	X	
<i>G. crinale</i>	SP469067	IBT1801	Encantadas, Ilha do Mel. M. T. Fujii. 12.VII.2014	PR	25°34'22.59"S/ 48°18'35.93"O	X	X	X
<i>G. crinale</i>	SP469067	IBT1803	Encantadas, Ilha do Mel. M. T. Fujii. 12.VII.2014	PR	25°34'22.59"S/ 48°18'35.93"O	X	-	-
<i>G. crinale</i>	SP469067	IBT1810	Encantadas, Ilha do Mel. M. T. Fujii. 12.VII.2014	PR	25°34'22.59"S/ 48°18'35.93"O	X	-	-
<i>G. crinale</i>	SP469065	IBC2514	Praia do Espelho, Porto Seguro. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos. 12.V.2014	BA	16°43'35.8"S/039°07'27.8"O	X	X	-
<i>G. crinale</i>	SP469066	IBT1814	Costa Dourada, Mucuri. M. T. Fujii. 25.VII.2014	BA	18°10'11.95"S/39°35'58.32"O	X	-	-
<i>G. crinale</i>	SP469066	IBT1815	Costa Dourada, Mucuri. M. T. Fujii. 25.VII.2014	BA	18°10'11.95"S/39°35'58.32"O	X	-	-
<i>G. floridanum</i>	SP469068	IBT1558	Praia do Sonho, Itanhaem. M. Jamas, N. S. Yokoya, C. H. Kano, C. Parqualetti, J. Martinez. 28.V.2013	SP	24°11'37.93"S/46°47'40.32"O	-	-	-
<i>G. floridanum</i>		IBT1505	Manguinhos, Serra. L. P. Machado	ES	20°10'17.97"S/ 40°13'6.04"O	X	X	X
<i>G. microdenticum</i>	SP469069	IBT1797	Encantadas, Ilha do Mel. M. T. Fujii. 12.VII.2014	PR	25°34'22.59"S/ 48°18'35.93"O	X	X	X
<i>G. microdenticum</i>	SP469070	IBT1805	Praia de Caiobá, Matinhos. M. T. Fujii. 11.VII.2014	PR	25°50'41.32"S/ 48°32'14.20"O	X		
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469080	IBT1559	Pedra do Sal, Luis Correia. M. T. Fujii; D. Milstein. 22.VI.2013	PI	2°48'14.09"S/ 41°43'46.56"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469081	IBT1567	Pedra do Sal, Luis Correia. M. T. Fujii; D. Milstein. 26.VI.2013	PI	2°48'14.09"S/ 41°43'46.56"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469081	IBT1570	Pedra do Sal, Luis Correia. M. T. Fujii; D. Milstein. 26.VI.2013	PI	2°48'14.09"S/ 41°43'46.56"O	X	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469082	IBT1560	Praia do Farol, Camocim. M. T. Fujii; D. Milstein. 24.VI.2013	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469071	IBC0601	Praia de Munguba, Paracuru. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469072	IBC0606	Praia de Ponta Grossa, Icapuí. C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 27.IV.2013	CE	04°37'49.05"S/37°30'28.45"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469073	IBT1514	Praia de Jacumã, Jacumã. S. M. P. B. Guimarães. 18.X.2012	RN	5°35'10.67"S/ 35°13'38.20"O	X	X	
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469074	IBT1693	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469075	IBT1699	Praia de Tourinhos, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°5'59.37"S/ 35°42'57.94"O	X	-	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469076	IBT1621	Praia do Toquinho, Ipojuca. M. T. Fujii. 17.IX.2013	PE	8°34'39.49"S/35°2'12.95"O	X	X	
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469077	IBT1527	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469077	IBT1528	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469078	IBC2518	Praia do Espelho, Porto Seguro. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos. 12.V.2014	BA	16°43'35.8"S/039°07'27.8"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 1	SP469078	IBC2520	Praia do Espelho, Porto Seguro. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos. 12.V.2014	BA	16°43'35.8"S/039°07'27.8"O	-	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 2	SP469079	IBT1703	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 2	SP469079	IBT1704	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 3	SP469083	IBT1719	Praia de Carapibus, Conde. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 01.IV.2014	PB	7°17'57.01"S/34°47'57.35"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 3	SP469084	IBT0354	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469085	IBT1566	Praia do Coqueiro, Luis Correia. M. T. Fujii; D. Milstein. 25.VI.2013	PI	2°52'26.42"S/ 41°38'41.24"O	X	X	
<i>Gelidium</i> sp. 4		IBT1561	Praia do Farol, Camocim. M. T. Fujii; D. Milstein. 24.VI.2013	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	-	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4		IBT1564	Praia do Farol, Camocim. M. T. Fujii; D. Milstein. 24.VI.2013	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469087	IBC0602	Praia de Guajiru, Trairi. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 25.IV.2013	CE	04°23'11.21"S/37°49'40.64"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469087	IBC0603	Praia de Guajiru, Trairi. B. N. Torrano-Silva; C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 25.IV.2013	CE	04°23'11.21"S/37°49'40.64"O	X	X	
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP428758	IBT1581	Praia Pacheco, Caucaia. C. H. Kano; L. P. Soares. 28.VI.2013	CE	3°40'27.71"S/38°39'53.47"O	X	X	X
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469089	IBT1688	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469090	IBT1700	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469090	IBT1702	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469090	IBT1708	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469091	IBT1713	Praia Baía da Traição, Baía da Traição. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 31.III.2014	PB	6°41'15.35"S/34°55'51.43"O	X	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP429048	IBT1523	Barra de Mamanguape, Rio Tinto. M. T. Fujii. 11.III.2013	PB	6°46'57.44"S/34°55'2.46"O	X	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469093	IBT1717	Praia de Carapibus, Conde. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 01.IV.2014	PB	7°17'57.01"S/34°47'57.35"O	-	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469094	IBT1892	Praia do Boqueirão, São Miguel dos Milagres. M. T. Fujii. 22.XI.2014	AL	9°7'29.67"S/ 35°16'36.19"O	-	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP469095	IBT1891	Praia Porto da Rua, São Miguel dos Milagres. M. T. Fujii. 21.XI.2014	AL	9°16'16.10"S/ 35°22'7.34"O	-	-	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP429049	IBT0350	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	X	-
<i>Gelidium</i> sp. 4	SP428757	IBT1580	Praia Mole, Carapebus. C. H. Kano; L. P. Machado. 23.VI.2013	ES	20°14'30.64"S/ 40°12'47.65"O	X	X	X
<i>Pterocladiaella bartlettii</i>	SP469098	IBT1568	Pedra do Sal, Luis Correia. M. T. Fujii; D. Milstein. 26.VI.2013	PI	2°48'14.09"S/ 41°43'46.56"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>		IBT1623	Praia Pacheco, Caucaia. C. H. Kano; L. P. Soares. 28.VI.2013	CE	3°40'27.71"S/38°39'53.47"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469100	IBT1867	Ponta dos Aneis, Maracajaú. I. B. Silva. 04.X.2009	RN	5°25'1.90"S/ 35°18'14.67"O	-	-	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469101	IBT1706	Praia Rio do Fogo, Maxaranguape. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 30.III.2014	RN	5°52'32.82"S/ 35°10'30.96"O	X	X	X
<i>P. bartlettii</i>	SP469102	IBT1511	Praia da Pipa, Vila dos pescadores. S. M. P. B. Guimarães. 16.X.2012	RN	5°46'8.07"S/ 35°11'42.97"O	X	-	-
<i>P. bartlettii</i>		IBT1503	Praia de Carapibus, Conde. M. T. Fujii. 22.VII.2012	PB	7°17'57.01"S/34°47'57.35"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469104	IBT0541	Praia de Boa Viagem, Recife. S. M. P. B. Guimarães. 28.IX.2011	PE	8°10'21.81"S/ 34°53'6.95"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469104	IBT0546	Praia de Boa Viagem, Recife. S. M. P. B. Guimarães. 28.IX.2011	PE	8°10'21.81"S/ 34°53'6.95"O	X	-	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469105	IBT0543	Praia de Boa Viagem, Recife. S. M. P. B. Guimarães. 01.X.2011	PE	8°10'21.81"S/ 34°53'6.95"O	X	-	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469106	IBT0545	Enseada dos Corais, Cabo. S. M. P. B. Guimarães. 27.IX.2011	PE	8°19'31.87"S/ 34°56'57.10"O	-	-	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>P. bartlettii</i>	SP469106	IBT0550	Enseada dos Corais, Cabo. S. M. P. B. Guimarães. 27.IX.2011	PE	8°19'31.87"S/ 34°56'57.10"O	X	-	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469107	IBT1619	Praia de Muro Alto, Ipojuca. M. T. Fujii. 19.IX.2013	PE	8°25'47.19"S/34°58'41.52"O	-	-	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469108	IBC0592	Praia do Francês, Marechal Deodoro. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 10.III.2013	AL	09°46'15.05"S/35°50'25.09"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469109	IBT1661	Praia do Saco, Estância. M. T. Fujii. 02.I.2014	SE	11°25'39.36"S/37°20'15.02"O	X		-
<i>P. bartlettii</i>	SP469109	IBT1662	Praia do Saco, Estância. M. T. Fujii. 02.I.2014	SE	11°25'39.36"S/37°20'15.02"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469110	IBT1489	Arembepe, Camaçari. J. M. Nunes. 23.IX.2010	BA	12°47'00.15"S/ 38°11'09.80"O	X	X	-
<i>P. bartlettii</i>	SP469111	IBC2575	Praia do Tororão, Prado. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos. 14.V.2014	BA	17°14'21.8"S/039°12'48.3"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP468821	IBT1053	Farol do Trapiá, Camocim. L. Soares. 12.III.2012	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	-	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469113	IBT1563	Praia do Farol, Camocim. M. T. Fujii; D. Milstein. 24.VI.2013	CE	2°51'44.39"S/ 40°51'34.94"O	-	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469114	IBC0597	Praia de Munguba, Paracuru. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 24.IV.2013	CE	03°43'00.20"S/38°30'40.46"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469115	IBC0604	Praia do Pacheco, Caucaia. C. A. Azevedo; P. B. Carneiro; T. Vieira-Pinto; B. N. Torrano-Silva. 26.IV.2013	CE	3°43'28.93"S/ 38°29'21.82"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469116	IBC0607	Praia de Ponta Grossa, Icapuí. C. A. Azevedo; T. Vieira-Pinto. 27.IV.2013	CE	04°37'49.05"S/37°30'28.45"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469117	IBT1691	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469117	IBT1692	Praia do Cardeiro, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°6'59.88"S/ 35°37'3.45"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469118	IBT1696	Praia de Tourinhos, São Miguel do Gostoso. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 29.III.2014	RN	5°5'59.37"S/ 35°42'57.94"O	-	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469119	IBT1508	Praia do Meio, Natal. S. M. P. B. Guimarães. 17.X.2012	RN	5°46'13.66"S/35°11'40.27"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469119	IBT1509	Praia do Meio, Natal. S. M. P. B. Guimarães. 17.X.2012	RN	5°46'13.66"S/35°11'40.27"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469120	IBT1711	Praia Baía da Traição, Baía da Traição. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 31.III.2014	PB	6°41'15.35"S/34°55'51.43"O	X	X	-

Continuação axeno 1

Espécies	Voucher Herbário	Cod. Instituição	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	UPA	cox1	rbcL
<i>P. beachiae</i>	SP469120	IBT1714	Praia Baía da Traição, Baía da Traição. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 31.III.2014	PB	6°41'15.35"S/34°55'51.43"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469120	IBT1716	Praia Baía da Traição, Baía da Traição. M. Jamas, M. T. Fujii, D. Milstein, A. Santos, T. Vieira-Pinto. 31.III.2014	PB	6°41'15.35"S/34°55'51.43"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469121	IBT1522	Praia de Boa Viagem, Recife. M. T. Fujii. 15.III.2013	PE	8°10'21.81"S/ 34°53'6.95"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469122	IBT1620	Praia de Muro Alto, Ipojuca. M. T. Fujii. 19.IX.2013	PE	8°25'47.19"S/34°58'41.52"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469123	IBT1616	Praia de Porto de Galinha, Ipojuca. S. M. P. B. Guimarães. 02.IX.2013	PE	8°30'26.00"S/ 34°59'59.95"O	-	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469124	IBT1622	Tamandaré, Tamandaré. M. T. Fujii. 18.IX.2013	PE	8°45'37.38"S/35°5'57.14"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469125	IBC0590	Praia do Francês, Marechal Deodoro. C. A. Azevedo; B. N. Torrano-Silva; T. Vieira-Pinto. 10.III.2013	AL	09°46'15.05"S/35°50'25.09"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469126	IBT1491	Praia do Forte, Mata de São João. J. M. Nunes. 25.IX.2010	BA	12°47'00.15"S/ 38°11'09.80"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469127	IBT1535	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469127	IBT1536	Praia de Jauá, Camaçari. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 23.V.2013	BA	12°49'08.50"S/38°13'07.35"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469128	IBT1488	Praia de Villas do Atlântico, Vila do Atlântico. J. M. Nunes. 12. VII.2010	BA	12°47'00.15"S/ 38°11'09.80"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469103	IBT1492	Praia de Stella Maris, Salvador. J. M. Nunes. 13.XII.2011	BA	12°47'00.15"S/ 38°11'09.80"O	X	X	-
<i>P. beachiae</i>	SP469112	IBT1493	Praia Serra Grande, Serra Grande. J. M. Nunes. 18.IV.2011	BA	12°47'00.15"S/ 38°11'09.80"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469092	IBC2569	Praia do Tororão, Prado. B. N. Torrano-Silva, J. Pires, A. S. Santos. 14.V.2014	BA	17°14'21.8"S/039°12'48.3"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469096	IBT0351	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	X	X
<i>P. beachiae</i>	SP469096	IBT0352	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469096	IBT0353	Penha, Itaparica. S. M. P. B. Guimarães; N. S. Yokoya. 29.IV.2010	BA	12°54'18.32"S/ 38°37'59.49"O	X	-	-
<i>P. beachiae</i>	SP469097	IBT1540	Praia da Coroa, Ilha de Itaparica, Vera Cruz. M. Jamas, B. N. Torrano-Silva, C. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto. 24.V.2013	BA	13°0'21.72"S/38°38'14.87"O	X	-	-
<i>Pterocradiella</i> sp.	SP469099	IBT1507	Praia do Curral, Ilha Bela. S. M. P. B. Guimarães. 31.VIII.2012	SP	23°51'56.11"S/ 45°25'54.34"O	X	-	X

