

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
MUSEU NACIONAL
MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BOTÂNICA)

**TAXONOMIA DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO
GENICULADAS (RHODOPHYTA, CORALLINALES) E A
INFLUÊNCIA DO HIDRODINAMISMO NAS
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE RODOLITOS
NA ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ.**

**Aluna: Luana Miranda Coutinho
Orientadora: Marcia Abreu de Oliveira Figueiredo
Coorientadora: Maria Beatriz Barbosa de Barros Barreto**

-2014-



UFRJ

**TAXONOMIA DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO
GENICULADAS (RHODOPHYTA, CORALLINALES) E A
INFLUÊNCIA DO HIDRODINAMISMO NAS
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE RODOLITOS
NA ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ.**

Luana Miranda Coutinho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional-Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

Orientadores:

**Dra. Marcia Abreu de Oliveira
Figueiredo & Dra. Maria Beatriz
Barbosa de Barros Barreto**

**Rio de Janeiro,
Dezembro, 2014**

**TAXONOMIA DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS
(RHODOPHYTA, CORALLINALES) E A INFLUÊNCIA DO
HIDRODINAMISMO NAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE
RODOLITOS NA ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ.**

Luana Miranda Coutinho

Orientadores:

Dra. Marcia Abreu de Oliveira Figueiredo
Dra. Maria Beatriz Barbosa de Barros Barreto

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

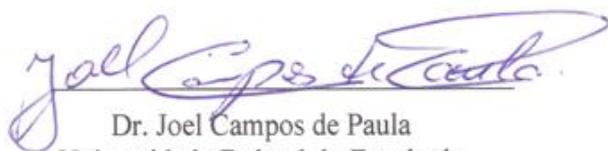
Apresentação: 04/11/2014

Grau de Aprovação: A

Aprovada por:



Presidente da banca:
Dra. Marcia A. de O. Figueiredo
Instituto de Pesquisas Jardim Botânico
do Rio de Janeiro



Dr. Joel Campos de Paula
Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro - UNIRIO



Dr. Frederico Tapajós de Souza
Tâmega
Instituto de Estudos do Mar
Almirante Paulo Moreira - IEAPM

Dra. Maria Tereza Menezes de
Széchy
Suplente
Universidade Federal do Rio de
Janeiro - UFRJ

Dr. Roberto Campos Villaça
Revisor e Suplente
Universidade Federal Fluminense -
UFF

Rio de Janeiro,
Dezembro de 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

C871t Coutinho, Luana Miranda
Taxonomia de algas calcárias não geniculadas (Rhodophyta, Corallinales) e a influência do hidrodinamismo nas características morfológicas de rodolitos na Armação dos Búzios, RJ. / Luana Miranda Coutinho. -- Rio de Janeiro, 2014.
98 f.

Orientadora: Marcia Abreu de Oliveira Figueiredo.
Coorientadora: Maria Beatriz Barbosa de Barros Barreto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós Graduação em Botânica, 2014.

1. Algas calcárias não geniculadas. 2. Análise molecular. 3. cox1. 4. psbA. 5. Armação dos Búzios. I. Figueiredo, Marcia Abreu de Oliveira, orient. II. Barros Barreto, Maria Beatriz Barbosa de, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

*Dedico este trabalho à minha família,
meu porto seguro em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Marcia Figueiredo, por me orientar mais uma vez nesta longa caminhada que é a vida acadêmica. Obrigada pela ajuda, os conselhos e os ensinamentos, são todos muito valiosos. Agradeço também à Maria Beatriz B. Barros Barreto, por me aceitar como aluna, por me orientar nesta empreitada molecular que é tão instigante, pelos cafés da tarde e por me ajudar a chegar até o final, com muita paciência e compreensão.

À Maria Carolina Henriques, que mais uma vez foi uma grande parceira. Muito obrigada Carol, pelas ajudas, companheirismo e as boas risadas!!!!

Ao Rafael Riosmena-Rodriguez por seus ensinamentos taxonômicos - é muito incentivador.

Agradeço também aos amigos de laboratório do LIFic: Larissa, Ana Paula, Daniela, Bruna e aos amigos do JBRJ: Alexandre e Fernanda. Ao Fred, um obrigado especial por me ajudar muito nas coletas dos rodolitos na Ilha Feia. Aos professores da UFRJ, Museu Nacional e do JBRJ, que foram de extrema importância na minha formação como mestre. Aos meus queridos amigos que tive o prazer em conhecer no período do mestrado: Rodrigo Diaz, Tiago Freitas e Thiago Costa. Sinto saudades de todos vocês!!

Aos meus amigos queridos: Vitor, Roberta, Raissa, Mariana, Paula, Ana Angélica, Bruno, Alexandre, André e Pedro. Cada um de vocês realmente fez uma contribuição ímpar para o desenvolvimento desta dissertação. Obrigada!!!!

E por último, agradeço aos meus pais, por me apoiarem muito ao longo de todo o mestrado. Às minhas irmãs, Marina e Nathália, por me darem bons momentos de descontração. Ao meu cunhado Bruno por ter sempre boas histórias para contar e meus sobrinhos lindos Lucas e Guilherme. Obrigada família!!!!

Prost!

RESUMO

TAXONOMIA DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS (RHODOPHYTA, CORALLINALES) E A INFLUÊNCIA DO HIDRODINAMISMO NAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE RODOLITOS NA ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ.

Luana Miranda Coutinho

Orientadores: Dra. Marcia A. de O. Figueiredo & Dra. Maria Beatriz B. de B. Barreto

A identificação das algas calcárias não geniculadas é considerada difícil e problemática por possuir uma grande plasticidade fenotípica. Devido à dificuldade de identificação, estudos com a taxonomia clássica têm se aliado à análise molecular para esclarecer dúvidas em relação ao correto enquadramento dos taxa. Estas algas estão presentes em quase todos os ambientes marinhos, e podem crescer formando estruturas calcárias de vida livre chamadas de rodolitos. Os rodolitos apresentam grandes variedades de tamanhos, formas e densidade de ramos, que os tornam uma estrutura tridimensional, possibilitando a criação de nichos ecológicos. O movimento da água tem sido considerado um fator importante na distribuição e morfologia dos rodolitos. Sendo assim este trabalho teve como objetivo identificar os taxa de algas calcárias não geniculadas, descrever a variação nas características morfológicas dos rodolitos e relacioná-las ao hidrodinamismo em um banco de rodolitos na Ilha Feia, Armação dos Búzios, Rio de Janeiro. Foram realizados cortes histológicos para análise morfoanatômica, e as análises moleculares se basearam em sequências de DNA dos marcadores *cox1* e *psbA*, sendo que para cada marcador foram geradas análise de distância, de Máxima Verossimilhança e Análise Bayesiana. Para a caracterização morfológica dos rodolitos no ambiente foi quantificado o grau de esfericidade, o tamanho médio, a densidade e a frequência das formas de crescimento dos rodolitos em um ponto voltado para o continente e outro voltado para o oceano. Como resultado, foram identificados: *Mesophyllum engelhartii*, *Mesophyllum* sp.1 e sp.2, *Lithothamnion* sp., *Lithophyllum* sp., e uma amostra de Melobesioideae indeterminada. Dados moleculares corroboraram com a identificação da maioria dos taxa. Os marcadores *cox1* e *psbA* foram eficientes na separação a nível específico apresentando filogramas semelhantes. Os resultados das características dos rodolitos mostraram que não teve diferença no grau de esfericidade nos dois lados da Ilha, apesar de possíveis diferenças na exposição a ondulações e correntes de fundo. A maioria dos rodolitos variaram de forma esférica a sub-esférica e o valor médio do tamanho dos rodolitos ficou na faixa entre 1,6-3 cm para ambos os pontos estudados, menor que em muitos bancos de rodolitos no Brasil. A forma de crescimento fruticoso foi predominante no lado voltado para o continente e a forma incrustante foi predominante no lado voltado para o oceano, onde houve uma maior e menor densidade de rodolitos, respectivamente. O menor tamanho dos rodolitos sugere uma limitação no crescimento provavelmente dada à turbidez e deposição de sedimentos enquanto que a variação nas formas de crescimento indicam condições ambientais variáveis. Os dados obtidos neste estudo representam um avanço na taxonomia das algas calcárias não geniculadas do Brasil, sendo pela primeira vez baseada em características morfológicas e moleculares para Armação dos Búzios.

Palavras-chave: algas calcárias não geniculadas; análise molecular; *cox1*; *psbA*; hidrodinamismo; Armação dos Búzios.

ABSTRACT

TAXONOMY OF NON-GENICULATE CALCAREOUS ALGAE (RHODOPHYTA, CORALLINALES) AND HYDRODYNAMIC INFLUENCE IN THE MORPHOLOGICAL FEATURES OF RHODOLITHS AT ARMAÇÃO DOS BÚZIOS, RJ.

Luana Miranda Coutinho

Supervisors: Dra. Marcia A. de O. Figueiredo & Dra. Maria Beatriz B de B Barreto

The identification of non-geniculate calcareous algae is difficult and a complicate task due to a large phenotypic plasticity. In consequence, classic taxonomic studies have been carried out with molecular biology to clarify questions regarding the appropriate identity of taxa. These algae are present in almost all marine environments and they may grow into free-living calcareous structures called rhodoliths. The rhodoliths present a great variety of sizes, shapes and branch density, which turn them into three-dimensional structures, possibly creating ecological niches. Water movement has been considered an important factor in the distribution and morphology of rhodoliths. In this way, this work aimed to identify taxa of non-geniculate calcareous algae, describe morphological variation of rhodoliths and its relationship to the hydrodinamic of a rhodolith bed at Ilha Feia, Armação dos Búzios, Rio de Janeiro. Histological sections were made for morphological analysis, the molecular analysis were based on DNA sequences of *cox1* e *psbA* markers, and distance analysis were generated to each marker as well as the Maximum Likelihood and bayesian analysis. The morphological characterization of rhodoliths was related to their environment by measuring the degree of sphericity, the average size and density of rhodoliths as well as the frequency of calcareous algae growth-forms in inshore and offshore sampling sites. The results were six identified taxa: *Mesophyllum engelhartii*, *Mesophyllum* sp.1 and sp.2, *Lithothamnion* sp., *Lithophyllum* sp., and one unidentified sample of Melobesioideae. Molecular data confirmed the identification of most taxa. The *cox1* and *psbA* markers were efficient in separating at the species level similar phylogeny clades. The rhodolith features results demonstrated that there were no differences in the sphericity degree between the two sides of the island, although there were probable differences in the exposition to waves and bottom currents. The majority of rhodoliths varied from spherical to sub-spherical shapes and their average size around 1.6-3 cm in both study sites was smaller than in most rhodolith beds of Brazil. The fruticose growth-form dominated the inshore side of the island and the incrusting growth-form dominated offshore where, respectively, there were high and low rhodolith densities. The small size of rhodoliths suggested a limitation of growth probably due to the turbidity of water and sediment deposition, meantime the range of calcareous algae growth-forms indicated a variable environmental condition. Data from this work represent an advanced step into the taxonomy of non-geniculate calcareous algae, based on morphological and molecular features for the first time in Armação dos Búzios.

Key-words: non-geniculate calcareous algae; molecular analysis; *cox1*; *psbA*; hydrodynamism; Armação dos Búzios.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XII
I- INTRODUÇÃO	1
I.1- IDENTIFICAÇÃO DOS TAXONS DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS.....	1
I.2- BIOLOGIA MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS	3
I.3 - CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS NO AMBIENTE	7
II – OBJETIVOS	10
II.1- GERAL	10
II.2- ESPECÍFICOS	10
III- MATERIAL E MÉTODOS	11
III.1- ÁREA DE ESTUDO	11
III.2- COLETA E AMOSTRAGEM	12
<i>III.2.1- Identificação morfológica e molecular das algas calcárias</i>	<i>12</i>
<i>III.2.2- Descrição da morfologia dos rodolitos</i>	<i>12</i>
III.3- ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS ALGAS CALCÁRIAS	13
<i>III.3.1- Triagem dos morfótipos e armazenamento das amostras</i>	<i>13</i>
<i>III.3.2- Microscopia óptica</i>	<i>14</i>
III.4- ANÁLISE MOLECULAR DAS ALGAS CALCÁRIAS	15
<i>III.4.1- Triagem dos morfótipos e armazenamento das amostras</i>	<i>15</i>
<i>III.4.2- Limpeza das amostras</i>	<i>15</i>
<i>III.4.3- Extração de DNA</i>	<i>15</i>
<i>III.4.4- Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)</i>	<i>15</i>
<i>III.4.5- Purificação e sequenciamento</i>	<i>17</i>
<i>III.4.6- Edição e alinhamento de sequências</i>	<i>17</i>
<i>III.4.7- Análise filogenética</i>	<i>17</i>
III.5- ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS	18
<i>III.5.1- Tamanho médio dos rodolitos e análise do grau de esfericidade</i>	<i>18</i>
<i>III.5.2- Quantificação da frequência das formas de crescimento dos rodolitos</i>	<i>18</i>
IV- RESULTADOS.....	19
IV.1- ANÁLISE MORFOLÓGICA	19
IV.2- ANÁLISE MOLECULAR	40
<i>IV.2.1- Análise com <i>cox1</i></i>	<i>40</i>
<i>IV.2.2- Análise com <i>psbA</i></i>	<i>43</i>
V- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS NO AMBIENTE	45
V.1- DENSIDADE DE RODOLITOS	45
V.2- FORMA DE CRESCIMENTO DE ALGAS CALCÁRIAS	46
V.3- TAMANHO MÉDIO DOS RODOLITOS	47
V.4- ANÁLISE DO GRAU DE ESFERICIDADE	48
VI- DISCUSSÃO	49
VI.1- CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS	49
VI.2- CONSIDERAÇÕES MOLECULARES.....	52
VI.3- CONSIDERAÇÕES SOBRE O TAMANHO E FORMAS DOS RODOLITO	56
VII-CONCLUSÕES.....	59
VIII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Morfologia de algas vermelhas coralináceas. A. Alga calcária mostrando genículos (setas) e intergenículos (i). B. Alga calcária não geniculada formando um rodolito..... 1
- Figura 2. Localização dos pontos de estudo na Ilha Feia, município de Armação dos Búzios, RJ. O ponto amarelo lado voltado para o continente e ponto vermelho lado voltado para o oceano. Fonte: Google Earth, 2013..... 11
- FIGURA 3.** Desenho amostral para coleta de rodolitos em uma matriz formada por três transectos (T₁, T₂ e T₃), distanciados em 2 m entre si, com 20 pontos aleatórios (azul) em cada transecto 13
- FIGURA 4.** Desenho amostral da densidade de rodolitos, determinada pelo quadrado (0,25 m²) em uma matriz composta por 10 pontos aleatórios em cada transecto (T₁, T₂ e T₃)..... 13
- FIGURA 5. A.** Morfologia de *Lithophyllum* sp. mostrando o talo incrustante Escala: 0,5 cm. B. Vista superficial do conceptáculo espermatangial. Escala: 800 µm. Corte longitudinal de *Lithophyllum* sp. mostrando: C. A organização celular dímera. Escala: 100 µm; D. As células epiteliais achatadas (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca) com tricocistos solitário (t). Escala: 10 µm; E. As conexões celulares secundárias (setas). Escala: 10µm; F. Conceptáculo espermatangial. Escala: 20 µm; G. Conceptáculos espermatangiais afundados no talo. Escala: 50 µm 21
- FIGURA 6.** Aspecto geral de diferentes formas de crescimento de *Mesophyllum engelhartii*. A. Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento verrucoso (LMC 8). Escala: 2 cm; B. Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento protuberante (LMC 9). Escala: 0,5 cm; C. Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento incrustante (LMC 6). Escala: 1 cm; D. Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento verrucoso (LMC 21). Escala: 1 cm 26
- FIGURA 7.** Aspectos vegetativos e reprodutivos de *Mesophyllum engelhartii*. A. Corte longitudinal mostrando organização celular monômera coaxial. Escala: 50 µm; B. Células epiteliais achatadas (seta preta) e as células subepiteliais alongadas (seta branca). Escala: 10 µm; C. Fusões celulares (setas). Escala: 10 µm; D. Conceptáculo tetrasporangial elevado com detalhe para o esporo (seta). Escala: 25 µm; E. Detalhe do poro com células indiferenciadas dispostas verticalmente e tampões apicais. Escala: 10 µm; F. Detalhe dos poros de um conceptáculo multiporado com 6 células em roseta ao seu redor. Escala: 10 µm 27
- FIGURA 8.** A. Morfologia de *Mesophyllum* sp.1 mostrando o talo incrustante. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de *Mesophyllum* sp.1 mostrando: B. Organização celular monômera coaxial. Escala: 50 µm; C. As células epiteliais achatadas (seta preta) e as células subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 5 µm. D. Conceptáculo tetrasporangial multiporado afundado. Escala: 20 µm. E. Detalhe do canal do poro com células mais estreitas ao redor dos poros (setas pretas), sendo a basal mais alongada (seta branca). Escala: 5 µm 30
- FIGURA 9. A.** Morfologia de *Mesophyllum* sp. 2 mostrando o talo incrustante. Escala: 1 cm. B. Vista superficial dos conceptáculos multiporados. Escala: 1000 µm. Corte longitudinal de *Mesophyllum* sp. 2 mostrando: C. A organização celular monômera coaxial. Escala: 100 µm; D. Células epiteliais achatadas (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 5 µm; E. Fusões celulares (seta). Escala: 10 µm; F. Conceptáculo tetrasporangial multiporado com tetrasporo zonado (seta). Escala: 20 µm; G. Poros delimitados

por células iguais às demais células do teto com tampão no canal do poro (setas pretas). Escala: 5 μ m 33

FIGURA 10. A. Morfologia de *Lithothamnion* sp. mostrando o talo protuberante. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de *Lithothamnion* sp. mostrando: B. A organização celular monômera coaxial. Escala: 100 μ m; C. Células epiteliais em forma de taça (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 10 μ m; D. Fusões celulares (setas). Escala: 10 μ m 36

FIGURA 11. A. Morfologia de Melobesioideae indeterminada mostrando o talo fruticoso. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de Melobesioideae indeterminada mostrando: B. As células epiteliais em forma de achatada (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 10 μ m; C. A organização celular monômera. Escala: 100 μ m; D. Conceptáculo tetrasporangial multiporado com detalhe do esporo (seta preta) e tetrásporo (seta branca). Escala: 50 μ m; E. Fusões celulares (seta). Escala: 10 μ m; F. Conceptáculo carposporangial com carsporângios (setas). Escala: 50 μ m 38

FIGURA 12. Filograma de Máxima Verossimilhança (ML) para as sequências do marcador *cox1*. Os valores de *bootstrap* (2000 réplicas) estão indicados nos ramos e foram plotados apenas os valores acima de 70 ou quando uma das análises obteve alto suporte. Os valores plotados nos ramos estão na seguinte ordem: *Neighbor-Joining* (NJ), ML e a probabilidade *a posteriori* da Análise Bayesiana. Os ramos com (*) possuem 100% de NJ e ML e 1,0 para probabilidade *a posteriori*. Os nomes circulosados em vermelho são os taxa do presente estudo seguidas das suas respectivas siglas. As sequências disponíveis no GenBank estão seguidas do número de acesso e do país de coleta. Escala: substituição por sitio 42

FIGURA 13. Filograma de Máxima Verossimilhança (ML) para as sequências do marcador *psbA*. Os valores de *bootstrap* (2000 réplicas) estão indicados nos ramos e foram plotados apenas os valores acima de 70 ou quando uma das análises obteve alto suporte. Os valores plotados nos ramos estão na seguinte ordem: *Neighbor-Joining* (NJ), ML e a probabilidade *a posteriori* da Análise Bayesiana. Os ramos com (*) possuem 100% de NJ e ML e 1,0 para probabilidade *a posteriori*. Os nomes circulosados em vermelho são os taxa do presente estudo seguidas das suas respectivas siglas. As sequências disponíveis no GenBank estão seguidas do número de acesso e do país de coleta. Escala: substituição por sitio 44

FIGURA 14. Densidade média de rodolitos para o lado protegido e exposto da Ilha Feia. As barras acima das colunas representam o erro padrão 45

FIGURA 15. Frequência do diâmetro médio dos rodolitos por classes de tamanho nos pontos de estudo. (A) lado voltado para o continente e (B) lado voltado para o oceano. As barras acima das colunas representam o erro padrão 47

FIGURA 16. Diagrama de esfericidade dos rodolitos nos pontos de estudo: lado voltado para o continente (A) e lado voltado para o oceano (B). Diâmetros médios representados por: a= comprimento, b= largura, c= altura 48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Tipos de marcadores moleculares de algas vermelhas e a frequência de uso em artigos de 1990 a 2006 (Maggs <i>et al.</i> 2007)	4
TABELA 2. Classificação taxonômica das algas calcárias proposta de Le Gall <i>et al.</i> (2010)	5
TABELA 3. Sequência dos primers utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento dos marcadores <i>cox1</i> e <i>psbA</i>	16
TABELA 4. Taxa analisados no presente estudo mostrando os que tiveram análise morfológica e/ou molecular	19
TABELA 5. Resumo comparativo das espécies do gênero <i>Lithophyllum</i> que foram descritas para o Brasil e que ocorrem em outras partes do mundo	22
TABELA 6. Resumo comparativo das características de <i>Mesophyllum engelhartii</i> descrita para o Brasil e outras partes do mundo	28
TABELA 7. Resumo comparativo das espécies de <i>Mesophyllum</i> que possuem células diferenciadas ao redor do poro e ocorrem no Brasil e em outras partes do mundo	31
TABELA 8. Resumo comparativo de espécies de <i>Mesophyllum</i> que possuem células não diferenciadas ao redor do poro e ocorrem no Brasil e outras partes do mundo	34
TABELA 9. Resumo comparativo da Melobesioideae indeterminada com as espécies próximas de <i>Lithothamnion</i> para o Brasil	39
TABELA 10. Análise de variância da densidade de rodolitos nos pontos de estudo	45
TABELA 11. Formas de crescimento s segundo Woelkerling <i>et al.</i> (1993), encontradas nos dois pontos de estudo na Ilha Feia	46

I - INTRODUÇÃO

As algas vermelhas (Filo Rhodophyta) são um grupo de organismos antigos e diversificados, que vão desde espécies unicelulares até espécies multicelulares complexas, que ocorrem principalmente no ambiente marinho em todo o mundo (Robba *et al.*, 2006). A ordem Corallinales representa um grupo taxonômico de algas vermelhas pertencentes à classe Florideophyceae, cuja principal característica é a impregnação de carbonato de cálcio na forma de cristais de calcita em sua parede celular (Cabioch & Giraud, 1986). Essas algas calcárias são divididas em dois grupos, de acordo com a sua morfologia: as geniculadas (ou articuladas) apresentam formas que possuem partes não calcificadas (genículos) intercaladas por segmentos calcificados (intergenículos) (Fig. 1A); e as não geniculadas (ou não articuladas) são formadas por talos completamente calcificados (não possuem genículos), tratadas no presente estudo (Fig. 1B).

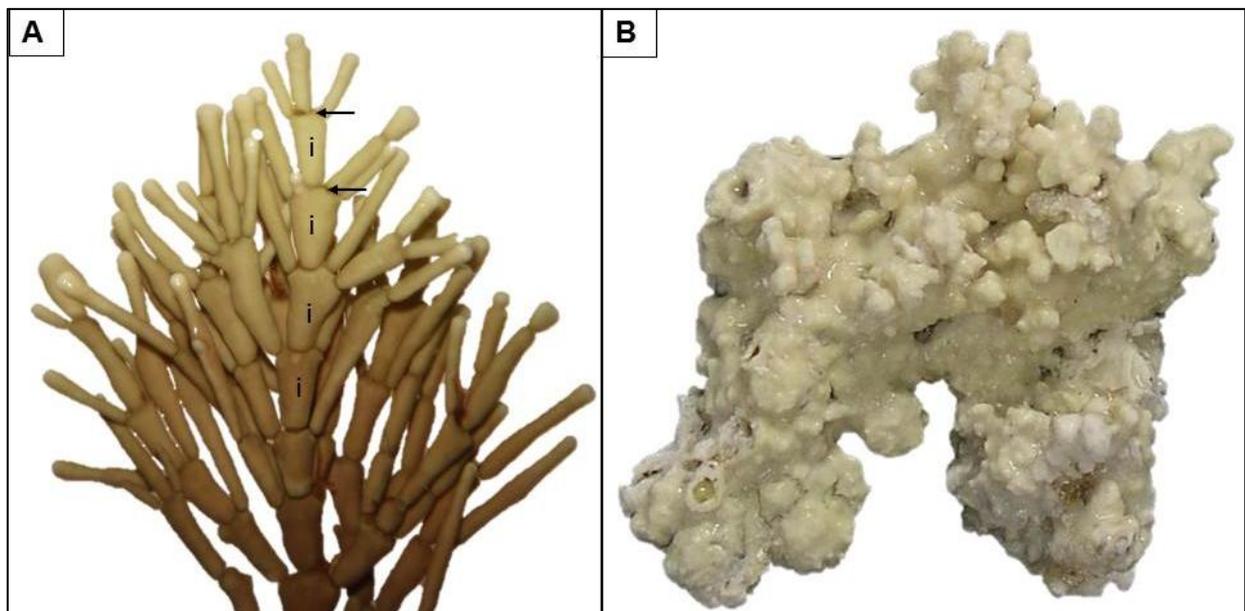


Figura 1. Morfologia de algas vermelhas coralináceas. **A.** Alga calcária mostrando genículos (setas) e intergenículos (i). **B.** Alga calcária não geniculada formando um rodolito.

I.1 - IDENTIFICAÇÃO DOS TAXA DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS

A identificação das algas calcárias não geniculadas a nível genérico ou específico é considerada, por muitos ficólogos, difícil e problemática devido a sua plasticidade fenotípica (Horta, 2000), ou seja, as características vegetativas como protuberâncias e ramos na superfície do talo podem variar de acordo com as condições ambientais (e.g. corrente, herbivoria e luminosidade), permitindo que gêneros e espécies distintas se tornem semelhantes no aspecto externo (Irvine & Chamberlain, 1994). Além disso, a dificuldade na identificação também se deve ao fato de que a maioria dos caracteres taxonômicos são baseados nas estruturas reprodutivas

(Riosmena-Rodríguez *et al.*, 2007), que só podem ser observadas através de microscopia óptica e eletrônica de varredura, impossibilitando reconhecê-las em campo, levando em muitos casos à coleta de indivíduos não férteis (Vidal *et al.*, 2003).

Os estudos iniciais sobre a taxonomia de algas calcárias não geniculadas ocorreram nas décadas de 60 e 70 no Brasil (revisão em Horta, 2000). Após três décadas foi que, efetivamente, esses estudos começaram a avançar com uma abordagem mais adequada, seguindo aspectos modernos tratados na literatura e, em colaboração com especialistas no grupo taxonômico. Figueiredo (1997) descreveu uma espécie típica de recifes caribenhos pela primeira vez para o Brasil, *Porolithon pachydermum* (Foslie) Foslie 1909, coletada no Arquipélago dos Abrolhos e, posteriormente, Figueiredo & Steneck (2002) listaram 11 taxa dessas algas calcárias, incluindo rodolitos, para a região dos Abrolhos. Villas-Bôas *et al.* (2005) reencontraram *P. pachydermum* e a descreveram para os recifes do Atol das Rocas. Horta (2000) descreveu sete espécies de algas calcárias não geniculadas da região sul e sudeste do Brasil. Tâmega & Figueiredo (2005) descreveram, para a Armação dos Búzios, *Hydrolithon samoense* (Foslie) Keats & Y.M. Chamberlain, pela primeira vez para o país. Em 2005, Nunes descreveu três espécies para o estado da Bahia, sendo *Lithophyllum stictaeforme* (Areschoung in J. Agardh) Hauck uma nova ocorrência para o país. Rocha *et al.* (2006) descreveram três espécies de algas calcárias não geniculadas da Ilha do Arvoredo. Nunes *et al.* (2008) reencontraram em águas rasas uma espécie descrita anteriormente para águas profundas e a descreveram, *Sporolithon episorum* (M. Howe) E.Y. Dawson, além de outras duas espécies no Estado da Bahia. Farias (2009) descreveu *Mesophyllum engelhartii* (Foslie) Adey, *Lithothamnion superpositum* Foslie como novas ocorrências para o Brasil. Em 2008, Villas-Bôas descreveu quatro espécies de *Lithophyllum*, sendo uma nova espécie para a ciência e duas novas ocorrências da subfamília Mastophoroideae para o país. Os resultados foram posteriormente publicados: *Lithophyllum corallinae* (P.Crouan & H.Crouan) Heydrich, *Lithophyllum johansenii* Woelkerling & Campbell, *Lithophyllum stictaeforme* (Areschoug) Hauck, *Lithophyllum depressum* Villas-Bôas, Figueiredo *et* Riosmena-Rodríguez, *Neogoniolithon cf brassica-florida* e *Hydrolithon rupestre* (Foslie) Penrose (Villas-Bôas *et al.*, 2009; Villas-Bôas *et al.* no prelo). Henriques *et al.* (2011) identificaram para bancos de profundidade no Espírito Santo, uma nova ocorrência para o Atlântico Sul, *Lithothamnion glaciale* Kjellman, e ampliaram a distribuição de duas espécies para 58 m de profundidade. Bahia *et al.* (2011) descreveram *Sporolithon ptychoides* Heydrich como primeira ocorrência no Brasil. Horta *et al.* (2011) descreveram detalhadamente *Mesophyllum erubescens* (Foslie) Me. Lemoine para Ilha do Arvoredo, até então conhecida somente para o nordeste brasileiro. Em 2012, Mariath *et al.* descreveram para Porto Seguro no Estado da Bahia,

Pneophyllum conicum (Dawson) Keats, Chamberlain *et* Baba uma nova ocorrência para o país e *Lithothamnion steneckii* Mariath & Figueiredo uma nova espécie para a ciência. Figueiredo *et al.* (2012), identificaram pela primeira vez para águas profundas *Mesophyllum engelhartii* na Bacia de Campos. Khader (2012) identificou oito espécies de algas calcárias não geniculadas para região de Cabo Frio, sendo uma delas nova espécie para a ciência, *Lithophyllum caissara* Khader, Figueiredo *et* Riosmena-Rodriguez. Em 2013, Bahia *et al.* identificaram uma nova espécie para ciência *Sporolithon tenue* Bahia, Amado-Filho, Maneveldt *et* Adey, através de dados morfoanatômicos e moleculares. Recentemente, Bahia *et al.* (2014) identificaram *Sporolithon molle* (Heydrich) Heydrich como uma nova ocorrência para o Oceano Atlântico. Por último, Henriques *et al.* (2014) estenderam o limite batimétrico e descreveram seis espécies sendo, *Hydrolithon breviclavium* (Foslie) Foslie e *H. onkodes* (Heydrich) D.Penrose & Woelkerling novos registros para a plataforma continental brasileira.

I.2 - BIOLOGIA MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE ALGAS CALCÁRIAS NÃO GENICULADAS

Devido à dificuldade de identificar e delimitar as espécies desse grupo de algas calcárias, estudos seguindo a taxonomia clássica têm se aliado à análise molecular para esclarecer dúvidas em relação ao correto enquadramento dos taxa (Huisman *et al.*, 2004). O estudo de sistemática molecular para algas está baseado no sequenciamento de DNA que pode ser obtido a partir de diferentes regiões genômicas (nuclear, mitocondrial e plastidial) denominadas de marcadores moleculares. Existem na literatura, diversos marcadores que são utilizados em algas vermelhas. Maggs *et al.* (2007) fizeram um levantamento da frequência de trabalhos que utilizaram marcadores de diferentes regiões genômicas, no período de 1990 até 2006, para filogenia das algas vermelhas (Tab. 1). Muitos marcadores vêm sendo utilizados para estudos em vários níveis taxonômicos, entretanto, genes mitocondriais e plastidiais são, na sua maioria, usados para resolver as relações entre espécies pertencentes a um gênero ou uma família (Maggs *et al.*, 2007). Observando os resultados da tabela 1, até 2006, apenas um trabalho foi publicado utilizando o marcador *cox1* e quatro publicações para *psbA*.

Recentemente, tem se utilizado o marcador molecular mitocondrial *cox1* que codifica a subunidade I da enzima citocromo *c* oxidase como um DNA *Barcode*, ou “código de barras do DNA” (Hebert *et al.*, 2003a; Stoeckle, 2003). O sistema de DNA *Barcoding* tem como objetivo identificar as espécies baseadas em pequenas sequências de DNA (marcador molecular). Inicialmente, este marcador foi estabelecido como DNA *Barcode* para animais (Hebert *et al.*, 2003a;b), entretanto, vários estudos já foram feitos para algas, principalmente as do Filo

Rhodophyta, que já utilizaram este marcador molecular (Saunders, 2005; Robba *et al.*, 2006; Geraldino *et al.*, 2009; Bittner *et al.*, 2011; Milstein *et al.*, 2012; Kato *et al.*, 2013; Peña *et al.*, 2014). Saunders (2005), afirmou que o *cox1-5'* é um aliado na identificação das espécies de algas vermelhas, entretanto muitos autores ressaltam que é necessário testá-lo e ainda avaliar suas taxas de divergências, de grupo para grupo, o que até o presente momento não foi realizado para as algas calcárias não geniculadas (Vieira-Pinto, 2011).

Outro marcador que vem sendo amplamente utilizado em algas vermelhas é o *psbA* (codifica o polipeptídeo D1 do fotossistema II). Seo *et al.* (2003) e Yang & Boo (2004) utilizaram este marcador plastidial para ordem Ceramiaceae. Kim *et al.* (2006) utilizaram este marcador para determinar afinidades filogenéticas entre as espécies achatadas de *Gracilaria* Greville na Coreia. Tronholm *et al.* (2010) analisaram marcadores mitocondrial (*cox1*), plastidial (*psbA*) e nuclear (LSU) para detectar híbridos ou introgressão em populações de *Dictyota* J.V. Lamour da Europa e definir ESUS (*Evolutionarily Significant Unit*) para o gênero. Para a ordem Corallinales, Broom *et al.* (2008) consideraram o *psbA* um potencial marcador por ser de fácil amplificação e mais variável que o nSSU.

Tabela 1. Tipos de marcadores moleculares de algas vermelhas e a frequência de uso em artigos de 1990 a 2006 (Maggs *et al.* 2007). *Marcador utilizado no presente estudo.

Região Genômica	Marcador Molecular	Tipo	Referência	Frequência
Nuclear	5S	DNA Ribossômico	Hori <i>et al.</i> (1985)	3
	18S	DNA Ribossômico	Bhattacharya <i>et al.</i> (1990)	62
	28S	DNA Ribossômico	Freshwater & Bailey (1998)	21
	ITS	Dois espaçadores ribossômicos	Steane <i>et al.</i> (1991)	17
	Actin	Gene	Hoef-Emden <i>et al.</i> (2005)	1
Mitocondrial	<i>cox2-3</i>	Espaçador intergênico	Zuccarello <i>et al.</i> (1999)	11
	<i>cox1</i> *	Gene	Saunders (2005)	1
Plastidial	16S	DNA Ribossômico	Olson <i>et al.</i> (2005)	3
	<i>rbcL</i>	Gene	Freshwater <i>et al.</i> (1994)	77
	<i>rbcS</i>	Gene	Lee <i>et al.</i> (2001)	2
	RuBisCo	Espaçador intergênico	Destombe & Douglas (1991)	22
	<i>psaA</i>	Gene	Yang & Boo (2004)	3
	<i>psaB</i>	Gene	Yoon <i>et al.</i> (2004)	1
	<i>psbA</i> *	Gene	Seo <i>et al.</i> (2003)	4
	<i>psbC</i>	Gene	Yoon <i>et al.</i> (2002, 2006)	1
	<i>psbD</i>	Gene	Yoon <i>et al.</i> (2002, 2006)	1
	<i>tufA</i>	Gene	Yoon <i>et al.</i> (2004)	1
	URP markers	Genes e espaçadores	Provan <i>et al.</i> (2004)	1

Trabalhos de algas calcárias não geniculadas com dados moleculares vêm sendo cada vez mais realizados no mundo (Bailey & Chapman, 1996; 1998; Bailey, 1999; Harvey *et al.*, 2002; Schaeffer *et al.*, 2002; Vidal *et al.*, 2002; Harvey *et al.*, 2003a; Vidal *et al.*, 2003; Bailey *et al.*, 2004; Broom *et al.*, 2008; Hughey *et al.*, 2008; Vidal *et al.*, 2008; Aguirre *et al.*, 2010; Le Gall *et al.*, 2010; Bittner *et al.*, 2011; Kato *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2012; Kato *et al.*, 2013, Peña *et al.*, 2014). No Brasil apenas três trabalhos foram recentemente publicados com dados moleculares. Em 2011, Vieira-Pinto trabalhou os aspectos morfoanatômicos, reprodutivos e moleculares do gênero *Lithophyllum* do sul do Brasil utilizando os seguintes marcadores moleculares: SSU rDNA, *cox1* e UPA. Sissini (2013) contribuiu com diversidade morfológica e molecular das espécies de Hapalidiaceae no litoral brasileiro com os seguintes marcadores: UPA, *psbA* e *rbcL*. Bahia *et al.* (2014) descreveram uma espécie nova para a ciência, *Sporolithon tenue*, também com abordagens morfoanatômicas e moleculares, utilizando o *psbA* como marcador molecular.

Devido ao aumento do uso da biologia molecular na identificação das algas calcárias, algumas mudanças taxonômicas destas algas vieram ao longo do tempo baseando-se em uma combinação de dados morfológicos, anatômicos, bioquímicos, ultraestruturais e moleculares (Bailey & Chapman 1996, 1998; Bailey 1999, Harvey *et al.* 2002, 2003a). Em 2007, Le Gall & Saunders propuseram a criação de uma subclasse Corallinophycidae Le Gall & Saunders, dentro da classe Florideophyceae, com base em estudos filogenéticos. Nessa subclasse foram reposicionadas as ordens Corallinales e Rhodogorgonales. Le Gall *et al.* (2010) propuseram a criação de uma nova ordem para as algas calcárias, a ordem Sporolithales Le Gall, Payri, Bittner & Saunders, que compreende uma única família, Sporolithaceae, com dois gêneros – *Sporolithon* e *Heydrichia* (Tab. 2). Para sustentar a proposta de criar a nova ordem Sporolithales, os autores utilizaram como evidência morfo-anatômica o padrão de divisão dos esporos (que em Sporolithales é cruciada e em Corallinales, zonada) e no tipo da estrutura de reprodução (em Sporolithales, os tetrasporângios se desenvolvem em compartimentos calcificados e em Corallinales, em conceptáculos).

Tabela 2. Classificação taxonômica das algas calcárias proposta do Le Gall *et al.* (2010).

Ordem	Famílias e Subfamílias
Corallinales	Corallinaceae - Metagoniolithoideae, Corallinoideae, Mastophoroideae e Lithophylloideae
	Hapalidiaceae - Austrolithoideae, Choreonematoideae e Melobesioideae
Sporolithales	Sporolithaceae

A abordagem molecular para este grupo de algas calcárias é bastante esclarecedora e importante, visto que há uma grande lacuna sobre os estudos dessas algas no Brasil. Henriques (2010) mostra que o Rio de Janeiro e o Espírito Santo são Estados que possuem a maior riqueza de famílias das Ordens Corallinales e Sporolithales. Entretanto, estudos sobre a taxonomia de algas calcárias formadoras de rodolitos nesta região são poucos, principalmente na Região de Cabo Frio, onde o município de Armação dos Búzios está inserido. No Brasil foram identificados até o momento 48 taxa, sendo 15 para o Estado do Rio de Janeiro, (Yoneshigue, 1985; Horta, 2000; Tâmega & Figueiredo, 2005; Henriques 2010; Figueiredo *et al.*, 2012; Khader, 2012). Contudo, somente dois taxa foram identificados em águas brasileiras através de dados morfoanatômicos e moleculares, uma nova espécie para ciência, *Sporolithon tenue* Bahia, Amado-Filho, Maneveldt *et* W.H. Adey (Bahia *et al.* , 2013) e uma nova ocorrência para o Oceano Atlântico, *Sporolithon molle* (Heydrich) Heydrich *et* Adey (Bahia *et al.* , 2014).

A região de Cabo Frio, no norte fluminense, é caracterizada pelo fenômeno oceanográfico da ressurgência, que é o afloramento de águas com baixas temperaturas ($\leq 18^{\circ}\text{C}$), ricas em nutrientes e que se deslocam do fundo para a superfície, provenientes da região central do Atlântico Sul, denominada de Água Central do Atlântico Sul (ACAS). Esse fenômeno é mais comum no período entre a primavera e o verão (Brasileiro *et al.*, 2009). Deste modo, nesta região podem ser encontrados taxa tipicamente tropicais, bem como, taxa típicos de regiões temperadas com afinidade por águas mais frias (Yoneshigue-Valentin & Valentin, 1992), proporcionando uma grande riqueza e abundância de espécies marinhas. Apesar de ser considerada uma área com elevado interesse para a conservação e uso sustentável dos recursos marinhos (MMA, 2002), até o momento há apenas cinco trabalhos publicados sobre esse grupo de algas calcárias na região (Yoneshigue, 1985; Tâmega & Figueiredo, 2005; Henriques 2010; Figueiredo *et al.*, 2012; Khader, 2012). Nessa região, o município da Armação dos Búzios é considerado de grande importância pela existência de áreas protegidas, como o Parque dos Corais, a Área de Proteção Ambiental Marinha de Búzios e a Reserva Marinha Extrativista de Arraial do Cabo. Nestas duas primeiras áreas protegidas destaca-se a Ilha Feia com um banco de rodolitos muito próximo aos costões rochosos, onde predominam estruturas de pequeno tamanho e de formas complexas e muito variável e ramificado que podem ser caracterizadas como *maërl* (Hall-Spencer, 1998). Sendo assim, a análise molecular pode servir como um meio que permitirá uma confirmação da identificação rápida e precisa, facilitando o conhecimento das espécies que tem uma grande plasticidade fenotípica (Milstein *et al.*, 2012), como no caso das algas calcárias formadoras de rodolitos (Horta, 2001).

I.3 - CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS NO AMBIENTE

As algas calcárias não geniculadas estão presentes em quase todos os ambientes marinhos, onde podem crescer firmemente aderidas a um substrato consolidado, como costões rochosos e recifes biológicos, ou desprendidas do substrato, formando estruturas calcárias de vida livre chamadas de rodolitos ou *maërl*. Os rodolitos são formados, principalmente, por algas calcárias não geniculadas. Um rodolito é considerado “verdadeiro” quando composto exclusivamente por uma ou mais espécies dessas algas calcárias (Foster, 2001), e quando tem a contribuição de outros organismos incrustantes e/ou perfurantes, tais como briozoários, foraminíferos, gastrópodes, formando uma estrutura denominada de *boxwork* (Basso, 1998).

Os rodolitos apresentam grandes variedades de tamanho, forma e densidade de ramos, que os fornecem uma estrutura tridimensional e assim possibilita a criação de nichos ecológicos. Quando se agrupam formando os bancos de rodolitos, aumentam a heterogeneidade do substrato, ou seja, fornece superfícies onde outras macroalgas possam se fixar e os invertebrados se assentarem (Kamenos *et al.*, 2004; Steller & Carcères-Martínez, 2009), alojarem-se (Bordeclore *et al.*, 2003) e/ou se refugiarem de potenciais predadores (Steller *et al.*, 2003; Figueiredo *et al.*, 2007). Os bancos de rodolitos são, portanto, ecologicamente importantes ao modificarem a heterogeneidade do fundo, de modo a sustentar uma maior riqueza de comunidades do que em outros substratos como cascalho, fundos de areia ou substratos com granulometria equivalente (Keegan, 1974). Além disso, seus esqueletos podem persistir ao longo do tempo geológico formando depósitos calcários, praias ou depósitos fósseis (Foster 2001).

Os bancos de rodolitos são mundialmente distribuídos, possuindo uma ampla faixa de ocorrência desde regiões tropicais até regiões polares, da zona entre marés até grandes profundidades na zona fótica (Foster, 2001). A costa brasileira possui a maior extensão de bancos de rodolitos do mundo (Foster, 2001), cerca de 4000 km de linha de costa, que vai do Estado do Maranhão ao Estado do Rio de Janeiro (Kempf, 1970; Lavrado, 2006), desde águas rasas até 250 m de profundidade (Henriques *et al.*, 2014), com ocorrências isoladas ao sul na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo no estado de Santa Catarina (Gherardi, 2004).

A maioria dos bancos de rodolitos do mundo é composto por duas ou três espécies de algas calcárias (Konar *et al.*, 2006), porém, a composição destes bancos varia nos oceanos, podendo ser mono ou multiespecíficos. Até o momento, todos os bancos de rodolitos brasileiros estudados são multiespecíficos. Villas-Bôas (2008) identificou sete espécies para o sul do Estado do Espírito Santo. Bahia (2010) definiu cinco taxa para um único banco na Praia de Itapuã em Salvador, Estado

da Bahia e Henriques (2010) identificou onze espécies em bancos de profundidade do norte do Estado do Rio de Janeiro ao sul da Bahia.

Enquanto a luz, a temperatura e a salinidade parecem influenciar na distribuição batimétrica e biogeográfica das espécies de algas calcárias (Adey, 1966; Steneck 1986; Figueiredo & Steneck, 2002), o movimento da água tem sido considerado um fator importante na distribuição e morfologia dos rodolitos (Steneck, 1986; Atabey, 1998; Marrack, 1999). O forte movimento da água e bioturbação podem fragmentar os rodolitos ou transportá-los para habitats desfavoráveis para o seu crescimento (Steller *et al.*, 2009). Os bancos de rodolitos, portanto, geralmente ocorrem em ambientes com um hidrodinamismo moderado (Foster *et al.*, 1997), onde se mantem soltos e insepultos (Foster *et al.*, 1997; Marrack, 1999).

O movimento moderado da água tem sido associado à persistência dos bancos de rodolitos, uma vez que reduz a deposição de sedimentos finos e a sua acumulação através da ressuspensão. Em qualquer profundidade, a rotação causada pelas ondas, correntes de fundo e bioturbação, permite que a luz atinja toda a superfície do rodolito além de evitar que sejam enterrados e incrustados por outros organismos (Steneck, 1986; Steller *et al.*, 2009). Steller & Foster (1995) transplantaram rodolitos abaixo dos limites inferiores do banco, onde foram soterrados por sedimento fino e morreram. Em laboratório, Wilson *et al.* (2004) mostraram que anoxia associada com sedimento fino pode matar as algas calcárias formadoras de rodolitos em duas semanas. Hall-Spencer *et al.* (2006) sugeriram que essas algas nos rodolitos morrem por condições anóxicas causadas pela deposição de sedimentos finos organicamente enriquecidos. Villas-Bôas *et al.* (2014) testaram, em laboratório, o soterramento de algas calcárias dominantes em rodolitos na Bacia de Campos, concluindo que a granulometria do sedimento tem um forte efeito negativo sobre a fotossíntese em um tempo relativamente curto.

Bancos de rodolitos sujeitos à ação das ondas ocorrem geralmente em águas relativamente rasas (3-12 m) em fundos levemente inclinados, onde o rolamento dos rodolitos tende a reduzir o acúmulo de sedimentos. Já nos bancos em águas de maior profundidade com fundos planos, o rodolito é transportado pelas correntes de fundo (Riosmena-Rodriguez *et al.*, 2010). Marrack (1999) afirma, através de vídeos e mergulho autônomo, que os rodolitos em bancos pouco afetados por correntes na sua margem mais profunda, só podem mover-se, ocasionalmente, devido à bioturbação e fortes tempestades.

O movimento da água também afeta a densidade, o tamanho e a forma dos rodolitos como também o padrão de ramificações das algas calcárias nos rodolitos (Bosence, 1976; Steller *et al.*, 2003; Sciberras *et al.*, 2009). De acordo com Steller & Foster (1995), as formas dos rodolitos estão

relacionadas com o aumento do gradiente de profundidade, uma vez que a sua movimentação tende a diminuir com o aumento da profundidade. Sciberras *et al.* (2009) afirmam que rodolitos esféricos e densamente ramificados são típicos de regimes com movimento de água elevados, enquanto rodolitos com ramificações mais abertas são encontradas em ambientes mais estáveis. Alguns autores relatam a transição das formas esféricas para planas de acordo com a diminuição de correntes (Bosence, 1976; Prager & Ginsburg, 1989). Outra característica importante, além da forma dos rodolitos, é a forma de crescimento das algas calcárias (*sensu* Woelkerling *et al.*, 1993), que descreve o padrão das ramificações. O grau de ramificação, geralmente diminui com o aumento da profundidade em função da circulação de correntes, (Bosence, 1983a).

No Brasil, pouco se sabe sobre a influência de fatores ambientais na morfologia das algas calcárias tal como demonstrado para a densidade e forma dos rodolitos. Um estudo realizado por Figueiredo *et al.* (2007) descreveu as relações morfométricas temporais entre rodolitos e a densidade de ramificações em um banco exposto a ação das ondas no Arquipélago dos Abrolhos. Amado-Filho *et al.* (2007) determinou a densidade e dimensões físicas dos rodolitos em função da profundidade no sul do Espírito Santo. Villas-Boas *et al.* (2008) e Berlandi *et al.* (2012) descrevem as características estruturais dos rodolitos, denominados *boxworks*, dadas pela presença de outros organismos incrustantes na sua construção. Na região de Cabo Frio, caracterizada pelas fortes ondulações dada à exposição da costa, estudos apontam a importância da temperatura e do hidrodinamismo na distribuição de outros grupos de macroalgas epilíticas (Yoneshigue, 1985), sem considerar as algas calcárias não geniculadas.

II – OBJETIVOS

II.1- GERAL

Identificar os taxa de algas calcárias não geniculadas, descrever a variação das características morfológicas dos rodolitos e relacioná-las ao hidrodinamismo dado pela localização em um banco de rodolitos na Ilha Feia, município da Armação dos Búzios, Estado do Rio de Janeiro.

II.2- ESPECÍFICOS

- Identificar os taxa mais abundantes de algas calcárias na cobertura viva dos rodolitos no banco estudado.
- Confirmar, através de ferramentas moleculares, a validade dos caracteres morfológicos empregados para distinguir estes taxa usando conceitos modernos na taxonomia do grupo.
- Descrever as formas de crescimento das algas calcárias e as características morfológicas dos rodolitos, em dois pontos de um mesmo banco.

III – MATERIAL E MÉTODOS

III.1 - ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo localiza-se na Ilha Feia (Fig. 2), situada a 2,82 km de distância da costa, próxima da Praia Rasa, no município da Armação dos Búzios (22°44'S e 41°53'O), costa sudeste brasileira. O banco de rodolitos encontra-se ao redor da Ilha Feia, estando protegido a moderadamente exposto a um maior hidrodinamismo, dependendo da localização. Devido às suas águas pouco profundas mesmo uma menor agitação provoca uma turbidez quase que constante na área.

A temperatura superficial da água varia entre 18° a 26°C devido à influência da Corrente do Brasil. Os ventos de nordeste sopram de novembro a fevereiro, quando ocorre o fenômeno da ressurgência na região, e os de sudoeste, a partir de março a junho. A ressurgência de águas frias, que ocorre na região de Cabo Frio, raramente influencia a região da Armação dos Búzios (Yoneshigue-Valentin & Valentin, 1992). De agosto a setembro ocorrem tanto os ventos de sudeste quanto de nordeste, porém os que prevalecem são os ventos de sudeste (Oigman-Pszczol & Creed, 2007).



Figura 2. Localização dos pontos de estudo na Ilha Feia, município de Armação dos Búzios, RJ. O ponto amarelo lado voltado para o continente e ponto vermelho lado voltado para o oceano. Fonte: Google Earth, 2013.

III.2 – COLETA E AMOSTRAGEM

Foram realizadas duas coletas através de mergulho autônomo. A primeira coleta foi no dia 05/02/2013 em um único ponto voltado para o oceano, apenas para coletar os rodolitos para identificação morfológica e molecular das algas. E a segunda, foi realizada em 30/04/2013, em dois pontos para a descrição das características morfológicas dos rodolitos. O primeiro ponto está localizado na parte voltada para o continente (22°43'31.6" S / 41°55'24.4" O), e o segundo ponto, localizado na parte voltada para o oceano (22°43'19.2" S / 41°55'06.4" O) (Fig. 2).

III.2.1 – Identificação morfológica e molecular das algas calcárias

Para a identificação morfológica e molecular, os rodolitos foram coletados qualitativamente, visto que a maioria dos caracteres utilizados atualmente na identificação morfológica está relacionada a estruturas reprodutivas sendo necessário coletar indivíduos férteis. As algas foram coletadas de acordo com sua diversidade morfológica e formas de crescimento. A coleta foi realizada em uma profundidade que variou de 5 a 9 m. Os indivíduos foram armazenados em sacos plásticos com água do mar e colocados dentro de caixas plásticas no escuro durante o transporte para o laboratório para manter a coloração natural.

III.2.2 – Descrição da morfologia dos rodolitos

As amostragens foram realizadas em duas áreas do banco de rodolitos, uma voltada para o continente e outra voltada para o oceano. Em cada área foi delimitada uma matriz para coleta das amostras. Para definir a localização dos pontos foram distendidos três transectos, cada um com 30 m de extensão e distanciados em 2 m entre si, paralelos à linha de costa, em uma faixa de profundidade de 4 a 11 m. Em cada transecto foram marcados 20 pontos aleatórios, totalizando assim 60 rodolitos em cada lado da ilha (exposto e protegido) (Fig. 3). Cada amostra foi colocada separadamente em um saco plástico durante a coleta (unidade amostral).

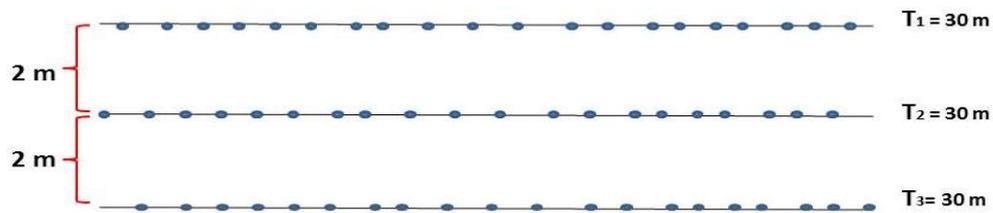


Figura 3. Desenho amostral para coleta de rodolitos em uma matriz formada por três transectos (T₁, T₂ e T₃), distanciados em 2 m entre si, com 20 pontos aleatórios (azul) em cada transecto.

Foi estimada a densidade no fundo, quantificando o número de rodolitos em uma área determinada pelo quadrado (0,25 m²) posicionada ao longo de 10 pontos aleatórios demarcados em cada transecto nas duas áreas de coleta (Fig. 4).

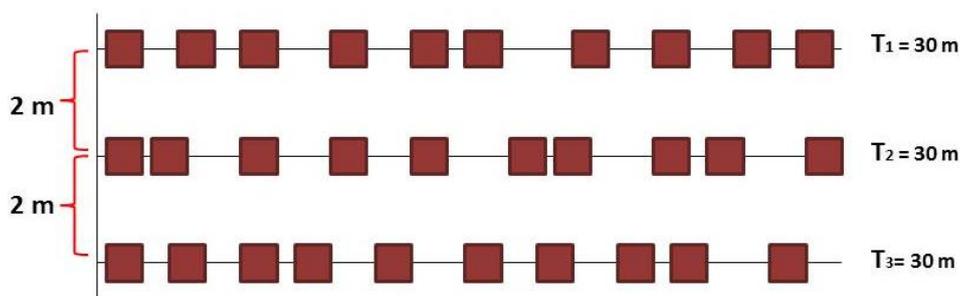


Figura 4. Desenho amostral da densidade de rodolitos, determinada pelo quadrado (0,25 m²) em uma matriz composta por 10 pontos aleatórios em cada transecto (T₁, T₂ e T₃).

III.3 - ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS ALGAS

III.3.1 - Triagem dos morfótipos e armazenamento das amostras

Em laboratório, as amostras de rodolitos foram separadas de acordo com os morfótipos dominantes de algas calcárias, através de uma triagem feita por observações em microscópio estereoscópico das seguintes características da morfologia externa:

- Coloração do talo;
- Forma de vida (Bosence, 1983b);
- Forma de crescimento dada pela morfologia da superfície do talo (Woelkerling *et al.*, 1993): incrustante, verrucoso, protubertante e fruticoso.
- Tipo das estruturas reprodutivas: uniporados, multiporados ou em formas de soros.
- Posição das estruturas reprodutivas no talo: elevado, plano e afundado.

A partir da triagem dos morfótipos, cada espécime selecionado teve um fragmento cortado para análise molecular e outro para análise morfológica. Os fragmentos separados para morfologia foram fixados em formol 4% em água do mar e os demais armazenados em sílica gel. Toda a coleção foi incorporada no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB) e apenas os taxa identificados ao nível de espécie foram incorporados no Herbário do Museu Nacional (R).

III.3.2- *Microscopia óptica*

Para identificação morfológica foi utilizado a metodologia de emblocamento em historesina proposta por Moura *et al.* (1997) que consiste na descalcificação, desidratação, infiltração, polimerização, cortes em micrótomo rotatório e preparo de lâminas histológicas para a análise no microscópio óptico. As características observadas foram:

1- Características vegetativas:

- Conexões citoplasmáticas secundárias e/ou fusão;
- Células epiteliais e subepiteliais (forma e tamanho);
- Organização do talo (dímero ou monômero);
- Tricocistos (presença e localização).

2- Características reprodutivas:

- Estruturas reprodutivas esporângiais na forma de conceptáculos;
- Conceptáculos tetra / bispóricos (uni ou multiporados);
- Posição das estruturas reprodutivas no talo (elevados, nivelados ou afundados);
- Forma das estruturas reprodutivas (dimensões da cavidade interna);
- Posição dos esporângios, quando presentes.

As estruturas encontradas foram observadas, fotografadas e medidas. Na identificação dos gêneros foram utilizadas chaves de identificação (Woelkerling, 1988; Horta, 2002) e as identificações das espécies foram baseadas em trabalhos de literatura especializada e revisões taxonômicas do grupo (Irvine & Chamberlain, 1994; Woelkerling, 1996a;b;c).

III.4 – ANÁLISE MOLECULAR DAS ALGAS CALCÁRIAS

III.4.1- *Triagem dos morfótipos e armazenamento das amostras*

Os rodolitos triados (conforme descrito no item II.3.1) foram armazenados em sacolas plásticas com sílica gel (Harvey *et al.*, 2003a).

III.4.2- *Limpeza das amostras*

Para minimizar as chances de amplificar outros organismos, as amostras foram observadas em microscópio estereoscópico para a melhor remoção de epífitas e da fauna associada que estão na superfície e no interior dos rodolitos. Em seguida, pequenos fragmentos da parte apical dos talos dos espécimes de rodolitos foram cuidadosamente cortados com ajuda de alicates e pinças. Estes fragmentos foram pesados em balança de precisão e a biomassa utilizada variou de 95 a 105 mg. Os fragmentos foram lavados com etanol 70% e depois, com água destilada. Após a lavagem, esses fragmentos foram secos em papel de filtro (Vidal *et al.*, 2002).

III.4.3 - *Extração de DNA*

Em cadinhos, os fragmentos foram macerados após o congelamento rápido em nitrogênio líquido para a lise de tecidos e células. A extração de DNA foi realizada com o *kit* de extração (DNeasy Plant Mini Kit - Qiagen, Hilden, Germany) e a metodologia seguiu conforme a orientação do fabricante (Kato *et al.*, 2011).

III.4.4 - *Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR):*

A reação em cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*) é um método de amplificação (de criação de múltiplas cópias) de DNA *in vitro*, que utiliza *primers* específicos para delimitar a região de interesse a ser amplificada. No presente estudo, foram utilizados marcadores moleculares: *cox1* e *psbA*. O marcador *cox1* codifica a subunidade I da enzima citocromo *c* oxidase, composto por aproximadamente 710 pb. Este foi escolhido com o propósito de utilização como *barcode* (projeto de padronização da identificação molecular de diversos organismos) das algas calcárias não geniculadas do Brasil, prática que tem sido uma tendência acadêmica mundial para algas vermelhas. O gene plastidial *psbA* codifica o polipeptídeo D1 do fotossistema II. O *psbA* é um segmento de DNA de aproximadamente 950 pb.

Para a preparação da reação em cadeia da Polimerase (PCR) com um volume final de 50µL foi utilizado a seguinte proporção de reagentes:

- **cox1:** 32 μL de H_2O milliQ; 5 μL de tampão da *GoTaq*® DNA Polymerase (10X); 2,5 μL de MgCl_2 (50 mM); 1 μL de dNTP (10 mM); 1,5 μL de cada primer (10 μM) (Tab. 3); 1 μL de albumina sérica bovina (10 mg/mL); 0,5 μL de *Taq polymerase* (5U/ μl); e 5 μL de DNA total (~20 ng/ μl).
- **psbA:** 28,1 μL de H_2O milliQ; 5 μL de tampão da *GoTaq*® DNA Polymerase (10x); 2,5 μL MgCl_2 (50 mM); 4 μL de dNTP (10 mM); 2 μL de cada primer (10 μM) (Tab. 3); 1 μL de Albumina Sérica Bovina (10 mg/mL); 0,4 μL de *Taq Polymerase* (5U/ μl) e 5 μL de DNA (~20 ng/ μl).

Tabela 3. Sequência dos *primers* utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento dos marcadores *cox1* e *psbA*.

Primers	Sequências	Referências
GAZ F1	5'- TCAACAAATCATAAAGATATTGG - 3'	Saunders, 2005
GAZ R1	5'- ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA - 3'	Saunders, 2005
<i>psbA</i> -F1	5'- ATGACTGCTACTTTAGAAAGAC - 3'	Yoon <i>et al.</i> , 2002
<i>psbA</i> -R2	5'- TCATGCATWACTTCCATACCTA - 3'	Yoon <i>et al.</i> , 2002

Foram realizados também, controles negativos de PCR (todos os reagentes menos DNA) a fim de verificar a pureza dos reagentes. A reação de PCR foi realizada em termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) nos seguintes ciclos para cada marcador:

- **cox1:** um ciclo de 1 min a 94°C; 5 ciclos de 1 min a 94°C, 1,5 min a 45°C e 1,5 min a 72°C; 35 ciclos de 1 min a 94°C, 1,5 min a 50°C e 1 min a 72°C e por fim, um ciclo de 5 min a 72°C (Hebert *et al.*, 2003a).
- **psbA:** um ciclo de 2 min a 94°C; 5 ciclos de 30 s a 94°C, anelamento por 30 s a 45°C, extensão durante 1 min a 72°C; depois 35 ciclos de 94°C durante 30 s, anelamento por 30 s a 46,5°C, extensão a 72°C durante 1 min; seguido da extensão final por 7 min a 72°C (Saunders & Moore, 2013).

Após a PCR, foi realizada a eletroforese em gel de agarose para verificar o tamanho e a quantidade de DNA amplificado comparando com o bandejamento de um marcador de peso molecular (*Ladder*). Desta forma, uma alíquota de 5 μL do DNA amplificado foi submetida a eletroforese em gel de agarose 1% em TBE e corado com GelRed™ 10000X, em cuba de

eletroforese; posteriormente o gel foi observado em transluminador UV e com a câmera acoplada ao transluminador, registrou-se a foto de cada gel.

III.4.5 – Purificação e sequenciamento

A purificação e o sequenciamento das amostras foram realizados comercialmente na empresa MacroGen Inc., Seul, Coréia do Sul.

III. 4.6- Edição e alinhamento de sequências

As sequências geradas foram comparadas nas bases de dados do *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) através do *Basic Local Alignment Search Tool* - BLAST (Altschul *et al.*, 1990) e do *Barcode of Life Data Systems* - BOLD (Ratnasingham & Hebert, 2007). As sequências direta (*forward*) e reversa (*reverse*) obtidas foram editadas utilizando-se o programa BioEdit 7.2.2 (Hall, 1999). Todos os alinhamentos foram revistos manualmente utilizando o cromatograma das sequências. As sequências consenso obtidas foram alinhadas utilizando o programa SeaView versão 4.4.2 (Galtier *et al.*, 1996).

Para o marcador *cox1*, foi gerada uma matriz de distância genética de 671 posições com 30 OTUs sendo, 10 sequências geradas no presente estudo e 20 disponíveis no banco de dados GenBank (Anexo 1). A matriz de distância genética de *psbA* possui 941 posições com 35 sequências sendo 6 geradas neste estudo e 29 retiradas do GenBank (Anexo 2).

III.4.7- Análise filogenética

Para o método de distância foram construídas árvores de agrupamento de vizinhos (*Neighbor-Joining* - NJ), desenvolvido por Saitou & Nei (1987), no programa *MEGA* versão 5 (Tamura *et al.*, 2011) com 2000 réplicas de *bootstrap*. A matriz de distância genética (distância *p*) foi feita no programa *MEGA* 5.2 (Tamura *et al.*, 2011). Através do programa *jModelTest* 2.1.4 (Darriba *et al.*, 2012) foi selecionado, usando o *Akaike Information Criterion* (AIC), o modelo evolutivo GTR (*General time reversible* - GTR) com uma proporção de sítios invariáveis (I) e distribuição gama (G) para acomodar as diferentes taxas para sítios variáveis. Para o marcador *cox1* o valor foi igual a 0.3600 para I e 0.2540 para G. Já para *psbA* o valor foi 0.6150 para I e 1.3140 para G.

A análise de máxima verossimilhança (ML) foi feita através do programa *MEGA* versão 5 (Tamura *et al.*, 2011) usando o método de *bootstrap* (2000 réplicas) e modelo evolutivo selecionado. Foram plotados apenas os valores iguais ou maiores que 70% para *bootstrap* ou

quando uma das análises teve alto suporte. Já a análise bayesiana foi feita no *MrBayes* v3.2.2 (Ronquist *et al.*, 2012, utilizando-se duas corridas com duas cadeias de Markov, 200000 de gerações. As cadeias foram iniciadas em árvores aleatórias, amostradas a cada 500 gerações e as 250 gerações iniciais correspondentes ao *burn-in*, foram descartadas. A probabilidade *a posteriori* é dada nos ramos das árvores e representa a probabilidade daquele clado ser verdadeiro.

III.5 – ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS

III.5.1 – Tamanho médio dos rodolitos e análise do grau de esfericidade

O tamanho médio dos rodolitos foi estimado com a média de três eixos ortogonais. As medidas dos rodolitos foram quantificadas com auxílio de um paquímetro. As amostras de rodolitos foram classificadas dentro de cinco classes de tamanho: 0-15 mm; 16-30 mm; 31-45 mm; 45-60 mm e >60 mm. O grau de esfericidade dos rodolitos foi calculado seguindo o método utilizado por Bosence (1983b) e a classificação de Sneed & Folk (1958), considerando-se três eixos ortogonais (a- eixo maior, b- eixo intermediário e c- eixo menor) e usando as fórmulas: c/a ; $a-b/a-c$ e $(c^2/ab)^{1/3}$. Para a análise de esfericidade foi gerado diagramas, utilizando-se o programa *Triangular Diagram Plotting Spreadsheet* (TRI-PLOT) (Graham & Midgley, 2000).

III.5.2 – Quantificação da frequência das formas de crescimento dos rodolitos

A forma de crescimento das algas calcárias reflete, de certo modo, a complexidade do talo dada pelo grau de ramificação. Deste modo, também foi quantificada a frequência das formas de crescimento seguindo a classificação de Woelkerling *et al.* (1993), que descreve dez formas de crescimento encontradas nas algas calcárias não geniculadas. Dentre estas, quatro foram utilizadas para a descrição de taxa no presente trabalho: incrustante, verrucosa, protuberante e fruticosa.

IV – RESULTADOS

IV.1 - ANÁLISE MORFOLÓGICA

Foram identificados 6 taxa sendo um pertencente à subfamília Lithophyoideae e cinco da subfamília Melobesioideae. Dentre estes taxa, foram preparadas lâminas e identificados três gêneros com base em caracteres morfológicos: *Lithophyllum* e *Mesophyllum* e *Lithothamnion* (Tab. 4).

Tabela 4. Taxa analisados no presente estudo mostrando os que tiveram análise morfológica e/ou molecular.

Taxa	Sigla	Morfologia	Molecular
<i>Lithophyllum</i> sp.	LMC 12	✓	✓
<i>Mesophyllum engelharti</i>	LMC 6	✓	✓
<i>Mesophyllum engelharti</i>	LMC 9	✓	✓
<i>Mesophyllum engelharti</i>	LMC 8	✓	✓
<i>Mesophyllum engelharti</i>	LMC 21	-	✓
<i>Mesophyllum</i> sp.1	LMC 10	✓	✓
<i>Mesophyllum</i> sp.2	LMC 11	✓	✓
<i>Lithothamnion</i> sp.	LMC 5	✓	✓
Melobesioideae indeterminada	LMC 1	✓	✓
Melobesioideae indeterminada	LMC 16	-	✓

Ordem CORALLINALES Silva & Johansen 1986:250
Família CORALLINACEAE J.V. Lamouroux 1812:185.

Subfamília LITHOPHYLLOIDEAE Setchell 1943: 134.

Talo não geniculado com células vegetativas de filamentos adjacentes unidas exclusivamente por ligações celulares secundárias. Esporângio que produz esporos zonados ocorrendo em conceptáculos uniporados que não possuem tampões apicais (Woelkerling, 1996a).

Lithophyllum Philippi 1837:387

Lithophyllum sp. - LMC 12

Figura 5 A-E

Tabela 5

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S/ 41°55'06.4"O - RB609177 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, formando rodolitos de coloração rosa-claro, tendo a forma de crescimento do tipo incrustante. (Fig. 5A).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com 36-48 camadas de células. Organização celular dímera (Fig. 5C). Região do hipotalo (medula) com células quadráticas, não paliçadas, medindo 10-12 µm de comprimento e 7-13,5 µm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células quadráticas, arredondadas e/ou cilíndricas, medindo 8,5-11 µm de comprimento e 6,5-9,5 µm de diâmetro. Células epiteliais achatadas medindo 2,5-4,5 µm de comprimento e 6,5-9,5 µm de diâmetro e células subepiteliais arredondadas medindo 7-12 µm de comprimento e 6,5-11 µm de diâmetro (Fig. 5D). Células de filamentos adjacentes ligadas por conexões celulares secundárias (Fig. 5E). Foram observados tricocistos solitários (Fig. 5D) e agrupados.

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Não foram observados conceptáculos esporangiais. Conceptáculo espermatangial (gametófito masculino) medindo 31-54 µm de comprimento e 88-115 µm de diâmetro, afundados no talo com espermatângios não ramificados no piso da câmara (Fig. 5B; 5F; 5G).

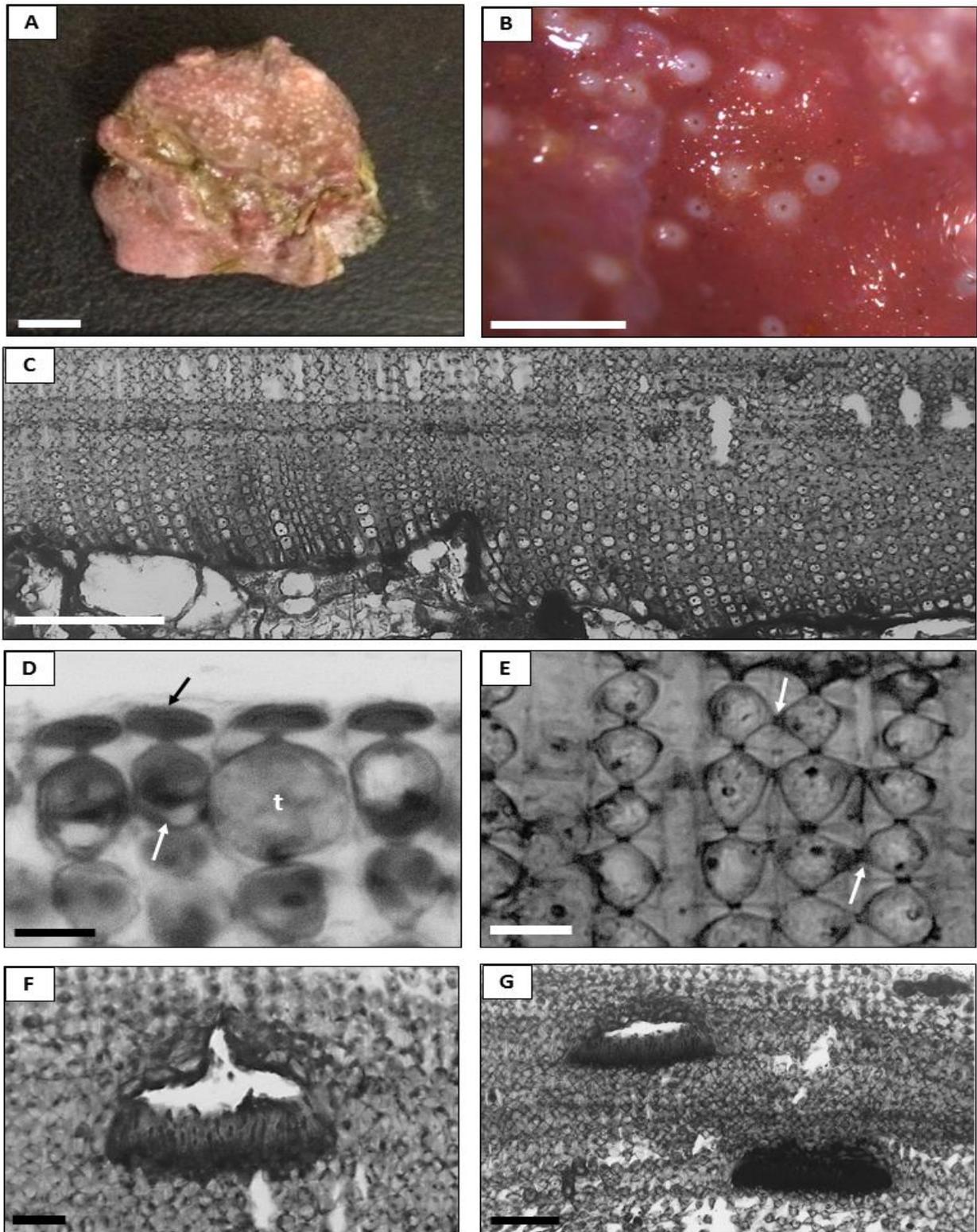


Figura 5. **A.** Morfologia de *Lithophyllum* sp. mostrando o talo incrustante. Escala: 0,5 cm. **B.** Vista superficial do conceptáculo espermatangial. Escala: 800 μ m. Corte longitudinal de *Lithophyllum* sp. mostrando: **C.** A organização celular dímera. Escala: 100 μ m; **D.** As células epiteliais achatadas (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca) com tricocistos solitário (t). Escala: 10 μ m; **E.** As conexões celulares secundárias (setas). Escala: 10 μ m; **F.** Conceptáculo espermatangial. Escala: 20 μ m; **G.** Conceptáculos espermatangiais afundados no talo. Escala: 50 μ m.

Tabela 5. Resumo comparativo das espécies do gênero *Lithophyllum* que foram descritas para o Brasil e que ocorrem em outras partes do mundo.

Características	<i>Lithophyllum</i> sp. (Presente estudo)	<i>L. stictaeforme</i> (Austrália) ¹	<i>L. stictaeforme</i> (Brasil) ²	<i>L. corallinae</i> (Austrália) ¹	<i>L. johansenii</i> (Austrália) ³	<i>L. margaritae</i> (Golfo da Califórnia) ⁴
Forma de crescimento	Incrustante	Incrustante a protuberante	Incrustante, verrucosa e protuberante	Incrustante, protuberante e verrucoso	Protuberante e/ou verrucoso	Fruticoso, folioso, verrucoso, protuberante, parcialmente incrustante
Tricocistos	Solitários e em campos	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Organização celular do talo	Dímero	Monômero	Monômera	Monômero	Dímero	Monômero
Altura da célula epitelial (µm)	2,4-4,7	3-6	4-7	3-6	4-6	2-4
Diâmetro da célula epitelial (µm)	6,6-9,6	4-11	7-11	6-10	6-9	6-10
Forma das células subepiteliais	Arredondadas	-	Alongadas	-	-	-
Altura do conceptáculo espermatangial (µm)	31,2-54,7	20-30	59-102	30-35	32-47(-80)	30-60
Diâmetro do conceptáculo espermatangial (µm)	88,3-115,6	85-95	98-135	110-120	80-100	100-150
Forma do teto do conceptáculo masculino	Nivelado ou ligeiramente protuberante	Ligeiramente protuberante	Ligeiramente protuberante	Ligeiramente protuberante	Nivelado ou ligeiramente protuberante	Nivelado ou ligeiramente protuberante
Filamentos espermatangiais	não ramificado; assoalho do conceptáculo	não ramificado; assoalho do conceptáculo	não ramificado; assoalho do conceptáculo	não ramificado; assoalho do conceptáculo	não ramificado; assoalho do conceptáculo	não ramificado; assoalho do conceptáculo

¹Harvey *et al.* (2009); ²Khader (2012); ³Woelkerling & Campbell (1992); ⁴Riosmena-Rodriguez *et al.* (1999).

Família HAPALIDIACEAE J.E. Gray 1864:22

Tetra ou bisporângios que produzem esporos zonados em conceptáculos multiporados (Harvey *et al.*, 2003b).

SUBFAMÍLIA MELOBESIOIDEAE Bizzozero 1885:109

Talo não geniculado com células vegetativas de filamentos adjacentes unidas por fusões celulares. Tetra ou bisporângios que produzem esporos zonados em conceptáculos multiporados com tampões apicais (Harvey *et al.*, 2003b).

Mesophyllum Me.Lemoine, 1928

Mesophyllum engelhartii (Foslie) Adey 1970: 23 – LMC 6, LMC 8, LMC 9 e LMC 21

Figura 6 A-D

Figura 7 A-F

Tabela 6

BASIÔNIMO: *Lithothamnion engelhartii* Foslie, 1900b:18

HOLÓTIPO: TRH, sem número (Woelkerling & Harvey, 1993: 583).

LOCALIDADE TIPO: Cape Jaffa, Sul da Austrália (Woelkerling & Harvey 1993: 583).

SINÔNIMOS HOMOTÍPICOS:

Lithothamnion engelhartii f. *imbricata* Foslie, 1900b: 18

SINÔNIMOS HETEROTÍPICOS:

Lithothamnion engelhartii f. *umbornata* Foslie, 1900b: 18

Lithothamnion engelhartii f. *imbricata* Foslie, 1900b: 18

REFERÊNCIAS: Woelkerling 1993: 84; Woelkerling & Harvey 1993: 583; Chamberlain & Keats 1995: 134; Woelkerling *et al.* 2005: 349.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA: Sul da Austrália, a partir da ilha de Rottneest, Austrália Ocidental, Victoria e no leste e sul da Tasmânia. Subantártica, Ilhas Auckland; como *Lithothamnion fumigatum* f. *auckladica* Foslie. Os registros de *Mesophyllum engelhartii* de Leigh na Nova Zelândia como *Lithothamnion engelhartii* f. *umbornata* e nas ilhas Fiji não foram verificados (Woelkerling & Harvey, 1993). Eagle Bluff, Shark Bay, Austrália Ocidental, Baía Kitty Miller, Ilhas Phillip, Victoria, Costas leste e sul da Tasmânia (Woelkerling, 1996b), na África do Sul (Chamberlain & Keats, 1995) e Brasil (ES e SC - Farias, 2009; ES - Amado *et al.*, 2010; ES - Henriques, 2010; RJ - Khader, 2012; RJ - Figueiredo *et al.*, 2012; RJ - Villas-Boas *et al.*, 2014).

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S/ 41°55'06.4"O – RB609178 e R223094 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, com coloração rosa a vermelho, que possui forma de crescimento incrustante, verrucoso e protuberante (Fig. 6A-D).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com organização celular monômera coaxial (Fig. 7A). Região do hipotalo (medula) com células medindo 8-20 μm de comprimento e 6-10,5 μm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células medindo 6,5-13,5 μm de comprimento e 5-9 μm de diâmetro. Células epiteliais achatadas a arredondadas com 3-6 μm de comprimento e de 7-10,5 μm de diâmetro e células subepiteliais maiores ou do mesmo tamanho que as células subjacentes medindo 4-8 μm de comprimento e de 4,5-9 μm de diâmetro. (Fig. 7B). Células de filamentos adjacentes ligadas por fusões celulares (Fig. 7C).

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Conceptáculo tetrasporangial multiporado levemente elevado e afundado quando senescente (Fig. 7D), com 4-6 células no teto da câmara do conceptáculo. Câmara do conceptáculo medindo de 80,5-116 μm altura e 213-280 μm de diâmetro, não apresentando columela. Tetrasporo zonado presente na câmara dos conceptáculos, com 61-76 μm de comprimento e 28-50 μm de diâmetro. Poros delimitados por células semelhantes em tamanho e forma quando comparadas com as demais células do teto do conceptáculo e presença de tampões apicais (Fig. 7E). Tais poros são circundados por 5-7 células em roseta (Fig. 7F).

CARACTERÍSTICA DIAGNÓSTICA

Mesophyllum engelhartii se diferencia de outras espécies de *Mesophyllum* principalmente pela seguinte combinação de características:

- Conceptáculos esporangiais elevados em relação à superfície vegetativa adjacente do talo;
- Topo do conceptáculo esporangial plano;
- Células que delimitam o canal do poro do conceptáculo esporangial semelhantes em forma e tamanho às demais células do teto do conceptáculo.

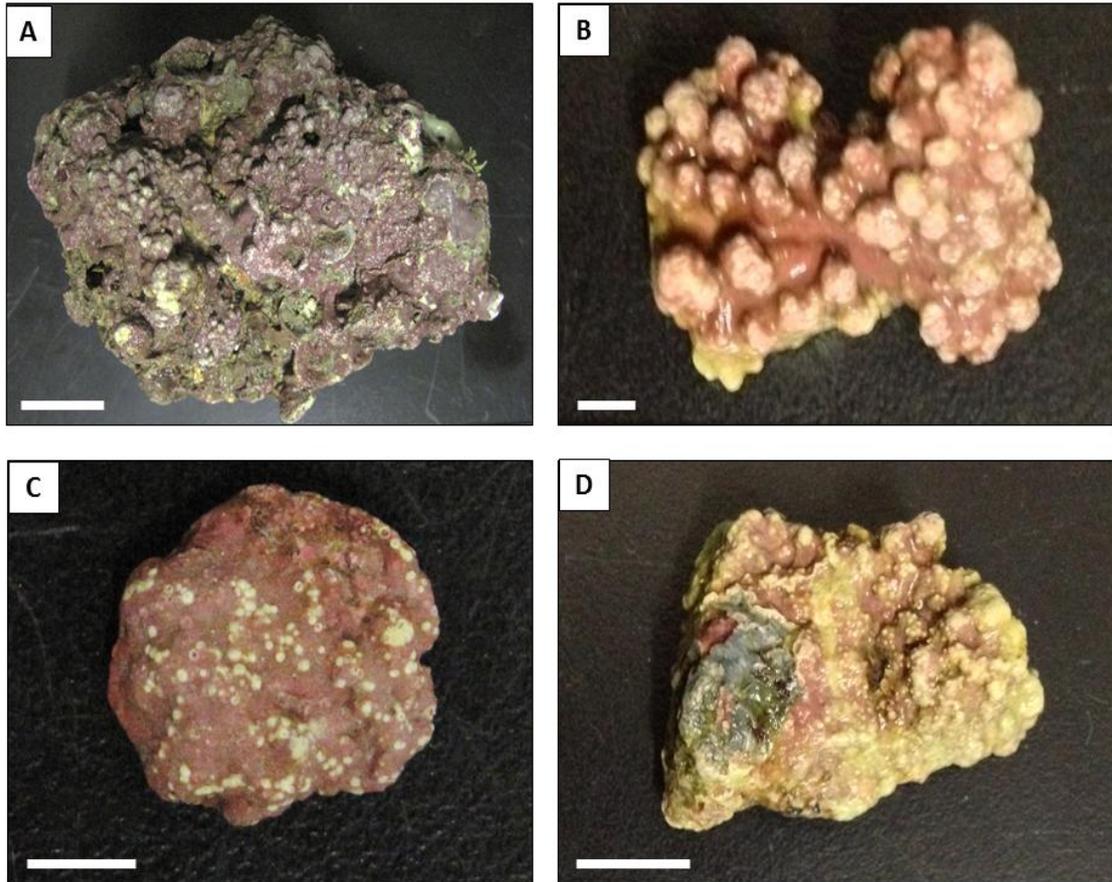


Figura 6. Aspecto geral de diferentes formas de crescimento de *Mesophyllum engelhartii*. **A.** Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento verrucoso (LMC 8). Escala: 2 cm; **B.** Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento protuberante (LMC 9). Escala: 0,5 cm; **C.** Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento incrustante (LMC 6). Escala: 1 cm; **D.** Morfologia geral de um espécime com forma de crescimento verrucoso (LMC 21). Escala: 1 cm.

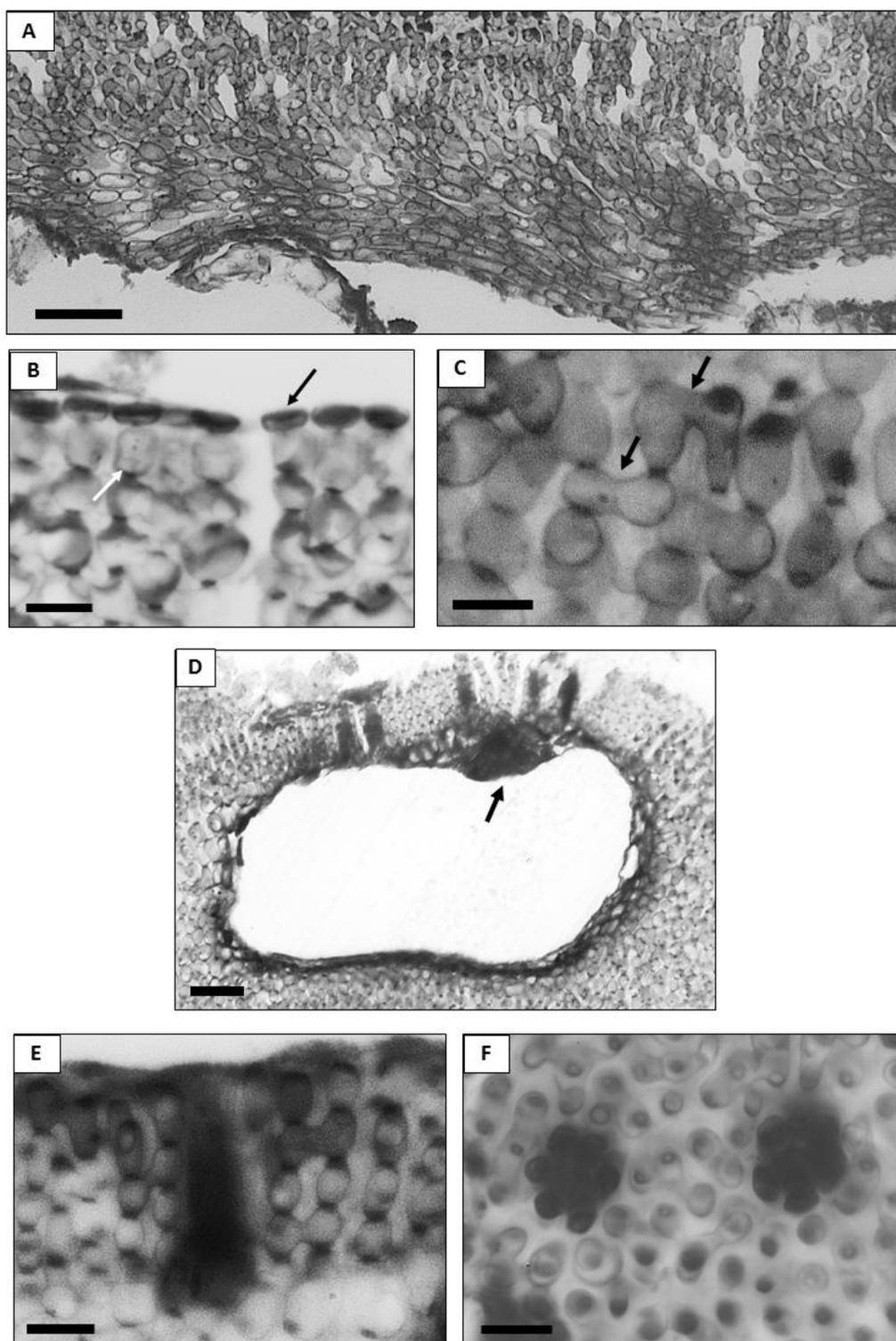


Figura 7. Aspectos vegetativos e reprodutivos de *Mesophyllum engelhartii*. **A.** Corte longitudinal mostrando organização celular monômera coaxial. Escala: 50 µm; **B.** Células epiteliais achatadas (seta preta) e as células subepiteliais alongadas (seta branca). Escala: 10 µm; **C.** Fusões celulares (setas). Escala: 10 µm; **D.** Conceptáculo tetrasporangial elevado com detalhe para o esporo (seta). Escala: 25 µm; **E.** Detalhe do poro com células indiferenciadas dispostas verticalmente e tampões apicais. Escala: 10 µm; **F.** Detalhe dos poros de um conceptáculo multiporado com 6 células em roseta ao seu redor. Escala: 10 µm.

Tabela 6. Resumo comparativo das características de *Mesophyllum engelhartii* descrita para o Brasil e outras partes do mundo.

Características	<i>M. engelhartii</i> (Presente estudo)	<i>M. engelhartii</i> (Golfo da Califórnia) ¹	<i>M. engelhartii</i> (África do Sul) ²	<i>M. engelhartii</i> (Sul da Austrália) ³	<i>M. engelhartii</i> (RN, Brasil) ⁴	<i>M. engelhartii</i> (BA, Brasil) ⁵	<i>M. engelhartii</i> (ES, Brasil) ⁶	<i>M. engelhartii</i> (RJ, Brasil) ⁷	<i>M. engelhartii</i> (RJ, Brasil) ⁸
Forma de crescimento	Incrustante a verrucoso a protuberante	Verrucoso	-	Incrustante a verrucoso	Incrustante	Incrustante a verrucoso	Incrustante	Incrustante e verrucoso	Protuberante
Morfologia do teto	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado	Elevado	Elevado
Organização celular do talo	Monômero coaxial	Monômero	-	Monômero coaxial a não coaxial	Monômero coaxial	Monômero	Monômero	Monômero	Monômero
Diâmetro do conceptáculo esporangial (µm)	213-323	142-319	182-238	160-500	186-510	250-400	189-226	222- 421	345-491
Altura do conceptáculo esporangial (µm)	80,5-133	74-159	104-208	65-260	122-271	130-200	110-115	148-246	217-241
Células ao redor do poro	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma	Similar em tamanho e forma
Nº de células no teto do conceptáculo esporangial	4-6	3-5	4-6	3-10	5-7	5-7	5-7	5-7	6-8

¹Riosmena-Rodríguez & Vásques-Elizondo (2012); ²Chamberlain & Keats (1995); ³Woelkerling & Harvey (1993); ⁴Farias (2009); ⁵Amado-Filho *et al.* (2010); ⁶Henriques (2010); ⁷Khader (2012); ⁸Figueiredo *et al.* (2012).

***Mesophyllum* sp. 1 - LMC 10**

Figura 8 A-E

Tabela 7

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S / 41°55'06.4"O – RB609179 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, em forma de rodolito com coloração vermelha, possuindo a forma de crescimento incrustante (Fig. 8A).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com organização celular monômera coaxial (Fig. 8B). Região do hipotalo (medula) com células medindo 6-8,5µm de comprimento e 9-15,5 µm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células medindo 8,5-11,5µm de comprimento e 5,5-7 µm de diâmetro. Células epiteliais achatadas com 2-3 µm de comprimento e de 4-6,5 µm de diâmetro e células subepiteliais maiores ou do mesmo tamanho que as células subjacentes medindo 4-6,5 µm de comprimento e de 3-4,5 µm de diâmetro. (Fig. 8C). Células de filamentos adjacentes ligadas por fusões celulares. Não foram observados tricocistos.

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Conceptáculo tetrasporangial multiporado afundado em relação à superfície do talo quando senescente. Câmara do conceptáculo medindo de 105-117 µm altura e 187-190 µm de diâmetro (Fig. 8D). Teto do conceptáculo esporangial sendo formado por 3-5 camadas de células. Canal do poro delimitado por células mais estreitas do que as demais células do teto do conceptáculo tetrasporangial, sendo a basal mais alongada (Fig. 8E); presença de tampões apicais. Tetrasporo zonado presente na câmara dos conceptáculos, com 54 µm de comprimento e 25 µm de diâmetro.

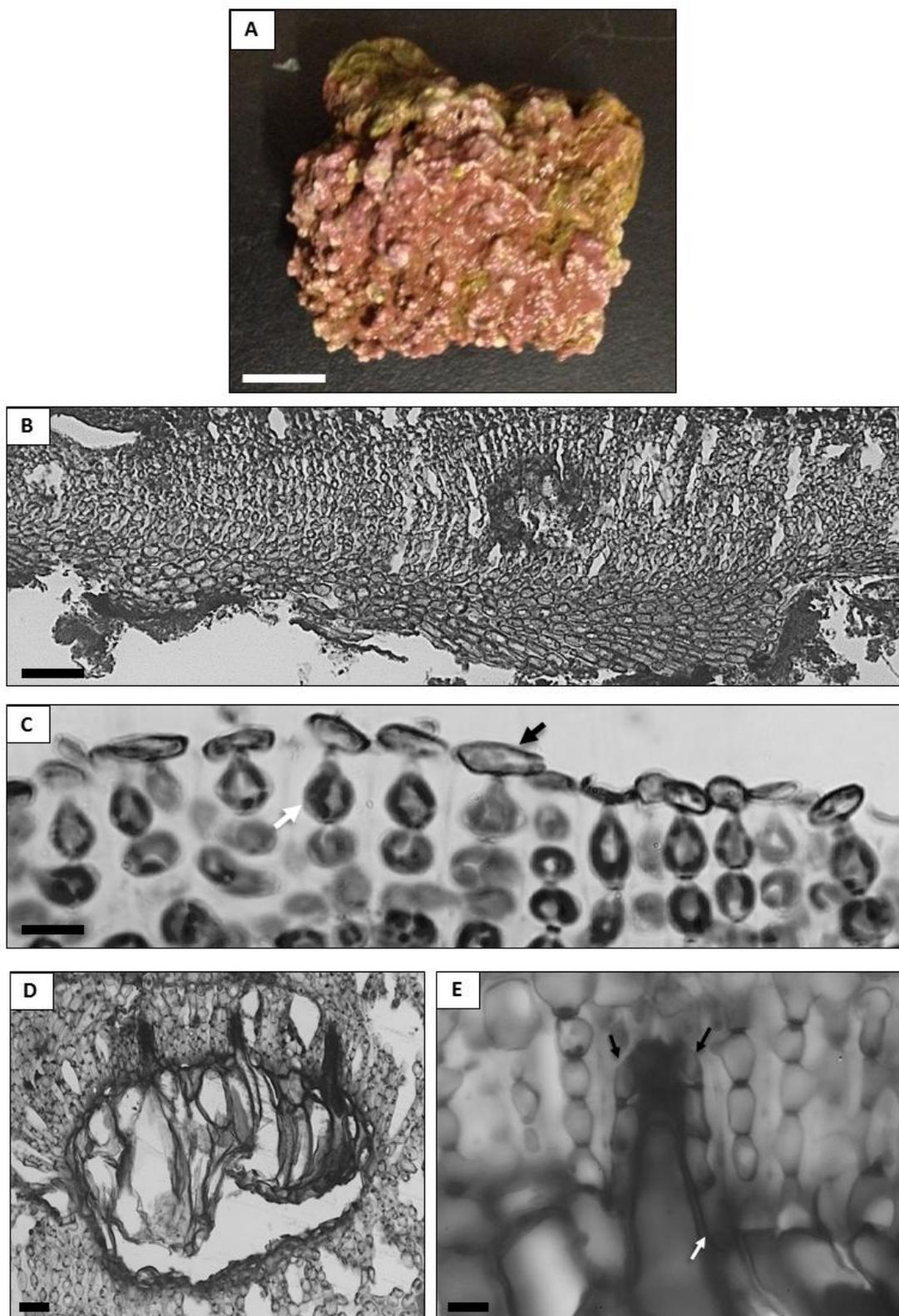


Figura 8. **A.** Morfologia de *Mesophyllum* sp.1 mostrando o talo incrustante. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de *Mesophyllum* sp.1 mostrando: **B.** Organização celular monômera coaxial. Escala: 50 μm ; **C.** As células epiteliais achatadas (seta preta) e as células subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 5 μm . **D.** Conceptáculo tetrasporangial multiporado afundado. Escala: 20 μm . **E.** Detalhe do canal do poro com células mais estreitas ao redor do poros (setas pretas), sendo a basal mais alongada (seta branca). Escala: 5 μm .

Tabela 7. Resumo comparativo das espécies de *Mesophyllum* que possuem células diferenciadas ao redor do poro e ocorrem no Brasil e em outras partes do mundo.

Características	<i>Mesophyllum</i> sp.1 (Presente estudo)	<i>M. printzianum</i> (Austrália) ¹	<i>M. incisum</i> (Austrália e África do Sul) ^{2,3}	<i>M. lichenoides</i> (Espanha) ⁴	<i>M. sphaericum</i> (Espanha) ⁵	<i>M. macedonis</i> (Mediterrâneo) ⁶	<i>M. erubescens</i> (SC, BA, RJ - Brasil) ^{7,8,9}
Forma externa do conceptáculo esporangial	Forma de monte ou achatado; sem borda periférica e placa central	Forma de vulcão e placa central com borda	Forma de monte ou achatado; sem borda periférica e placa central ^{2,3}	-	Forma de monte e placa central sem borda	Forma de monte e placa central sem borda	Forma plana e placa central sem borda
Forma de crescimento	Incrustante	Incrustante, verrucoso fruticoso	Folioso a verrucoso ² Incrustante ³	Lamelado	Fruticoso, densamente ramificado	Folioso	Verrucoso a fruticoso
Organização celular do talo	Monômero coaxial	Monômero coaxial e não coaxial	Monômero coaxial ^{2,3} e não coaxial ²	Monômero coaxial	Monômero coaxial	Monômero não coaxial-	Monômero coaxial
Altura do conceptáculo esporangial (µm)	105-117	175-190	130-265 ² 115-190 ³	300-380	143-300	110-125	84-153 (150) ⁷ (124-150) ⁸
Diâmetro do conceptáculo esporangial (µm)	187-190	185-420	340-655 ² 225-400 ³	520-800	225-540	320-500	254-551 (195-310) ⁷ (175-260) ⁸
Nº de células no teto do conceptáculo esporangial	3-5	3-6	4-7 ² 3-8 ³	6-7	5-6	4-5	5-7 (4-5) ⁷ (5-6) ⁸
Forma das células que delimitam o canal do poro	Mais estreitas e basal alongada	Mais estreitas e basal alongada	Mais estreitas e basal alongada ^{2,3}	Curtas e quadradas	Mais estreitas e basal alongada	Mais estreitas e basal alongada	Basal alongada
Nº de células de delimitam o canal do poro	3-5	-	-	7-10	-	-	-

¹Woelkerling & Harvey (1993); ²Woelkerling & Harvey (1992); ³Keats & Maneveldt (1997); ⁴Athanasiadis & Neto (2010); ⁵Peña *et al* (2011); ⁶Athanasiadis (1999); ⁷Horta *et al.* (2011); ⁸Nunes *et al.* (2008), ⁹Khader (2012).

***Mesophyllum* sp. 2 - LMC 11**

Figura 9 A-G

Tabela 8

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S / 41°55'06.4"O – RB609180 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, em forma de rodolito com coloração vermelha que possui forma de crescimento incrustante (Fig. 9A).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com organização celular monômera coaxial (Fig. 9C). Região do hipotalo (medula) com células medindo 6,1-12,9 µm de comprimento e 5,3-7,9 µm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células medindo 6-11,1 µm de comprimento e 5,3-7,5 µm de diâmetro na região do córtex. Células epiteliais achatadas com 2,1-3,5 µm de comprimento e de 5,9-7,4 µm de diâmetro e células subepiteliais maiores ou do mesmo tamanho que as células subjacentes medindo 5,9 - 8,6 µm de comprimento e de 4,3 - 6,1 µm de diâmetro (Fig. 9D). Células adjacentes ligadas por fusões celulares (Fig. 9E). Não foram observados tricocistos.

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Conceptáculo tetrasporangial multiporado levemente elevado com 3-6 células acima da câmara do conceptáculo. Câmara do conceptáculo medindo de 74-116 µm altura e 140-278 µm de diâmetro, não apresentando columela (Fig. 9B, 9F). Tetrasporo zonado presente na câmara dos conceptáculos, com 47-86 µm de comprimento e 28-43,5 µm de diâmetro (Fig. 9F). Poros delimitados por células semelhantes em tamanho e forma às demais células do teto do conceptáculo e presença de tampões apicais (Fig. 9G).

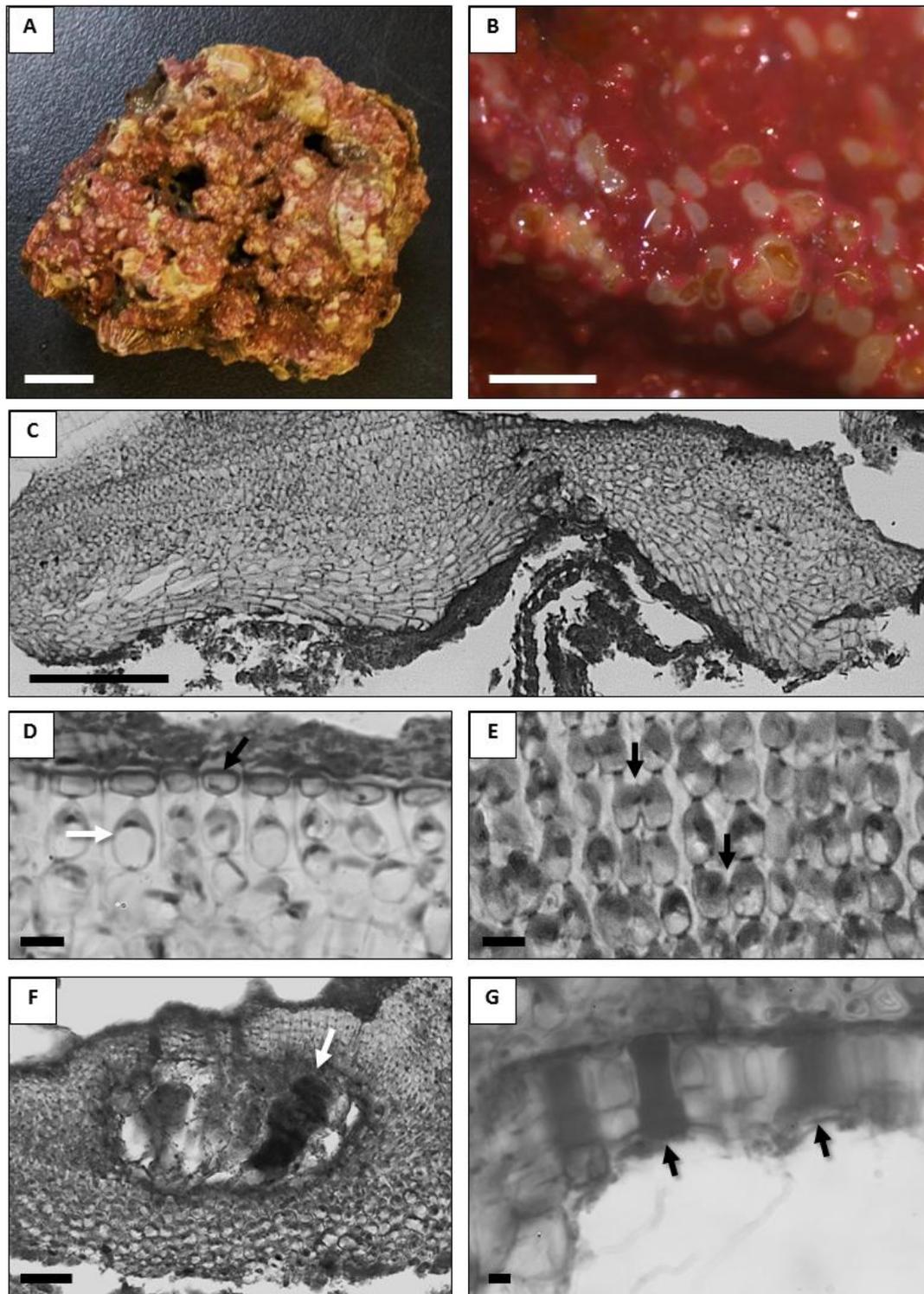


Figura 9. **A.** Morfologia de *Mesophyllum* sp. 2 mostrando o talo incrustante. Escala: 1 cm. **B.** Vista superficial dos conceptáculos multiporados. Escala: 1000 μ m. Corte longitudinal de *Mesophyllum* sp. 2 mostrando: **C.** A organização celular monômera coaxial. Escala: 100 μ m; **D.** Células epiteliais achatadas (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 5 μ m; **E.** Fusões celulares (seta). Escala: 10 μ m; **F.** Conceptáculo tetrasporangial multiporado com tetraspore zonado (seta). Escala: 20 μ m; **G.** Poros delimitados por células iguais as demais células do teto com tampão no canal do poro (setas pretas). Escala: 5 μ m.

Tabela 8. Resumo comparativo de espécies de *Mesophyllum* que possuem células não diferenciadas ao redor do poro e ocorrem no Brasil e outras partes do mundo.

Características	<i>Mesophyllum</i> sp.2 (Presente estudo)	<i>M. crassiusculum</i> (América do Norte) ¹	<i>M. funafutiense</i> (África do Sul) ²	<i>M. engelhartii</i> (África do Sul) ³	<i>M. engelhartii</i> (Brasil) ⁴
Forma de crescimento	Incrustante	Incrustante	Incrustante	-	Incrustante
Organização celular do talo	Monômero coaxial	Monômero coaxial	Monômero coaxial	-	Monômero coaxial
Aparência do teto do conceptáculo	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado	Elevado ou achatado
Diâmetro do conceptáculo esporangial (µm)	140-278	250-410	500-575	182-238	186-407
Altura do conceptáculo esporangial (µm)	74-116	130-190	186-225	104-208	122-271
Nº de células no teto do conceptáculo esporangial	3-6	6-10	7-10	4-6	5-7
Células dos filamentos que delimitam o canal do poro	Similar em tamanho e forma as demais células do teto	Similar em tamanho e forma as demais células do teto	Similar em tamanho e forma as demais células do teto	Similar em tamanho e forma as demais células do teto	Similar em tamanho e forma as demais células do teto

¹Athanasiadis *et al.* (2004); ²Keats & Chamberlain (1994); ³Chamberlain e Keats (1995); ⁴Farias 2009.

***Lithothamnion* Heydrich, 1897: 412**

***Lithothamnion* sp. - LMC 5**

Figura 10 A-F

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S / 41°55'06.4"O – RB609182 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, em forma de rodolito com coloração vermelha que possui forma de crescimento protuberante (Fig. 10A).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com organização celular monômera (Fig. 10B). Região do hipotalo (medula) com células medindo 9,5-19,9 µm de comprimento e 8,9-23,6 µm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células medindo 10,9-18,1 µm de comprimento e 7,6-12,1 µm de diâmetro na região do córtex, terminando em uma única camada de células epiteliais achatadas com 3,5-4,1 µm de comprimento e de 8,1-11 µm de diâmetro (Fig. 10C). Células adjacentes ligadas por fusões celulares (Fig. 10D). Não foram observados tricocistos.

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Não foi encontrada nenhuma estrutura reprodutiva.

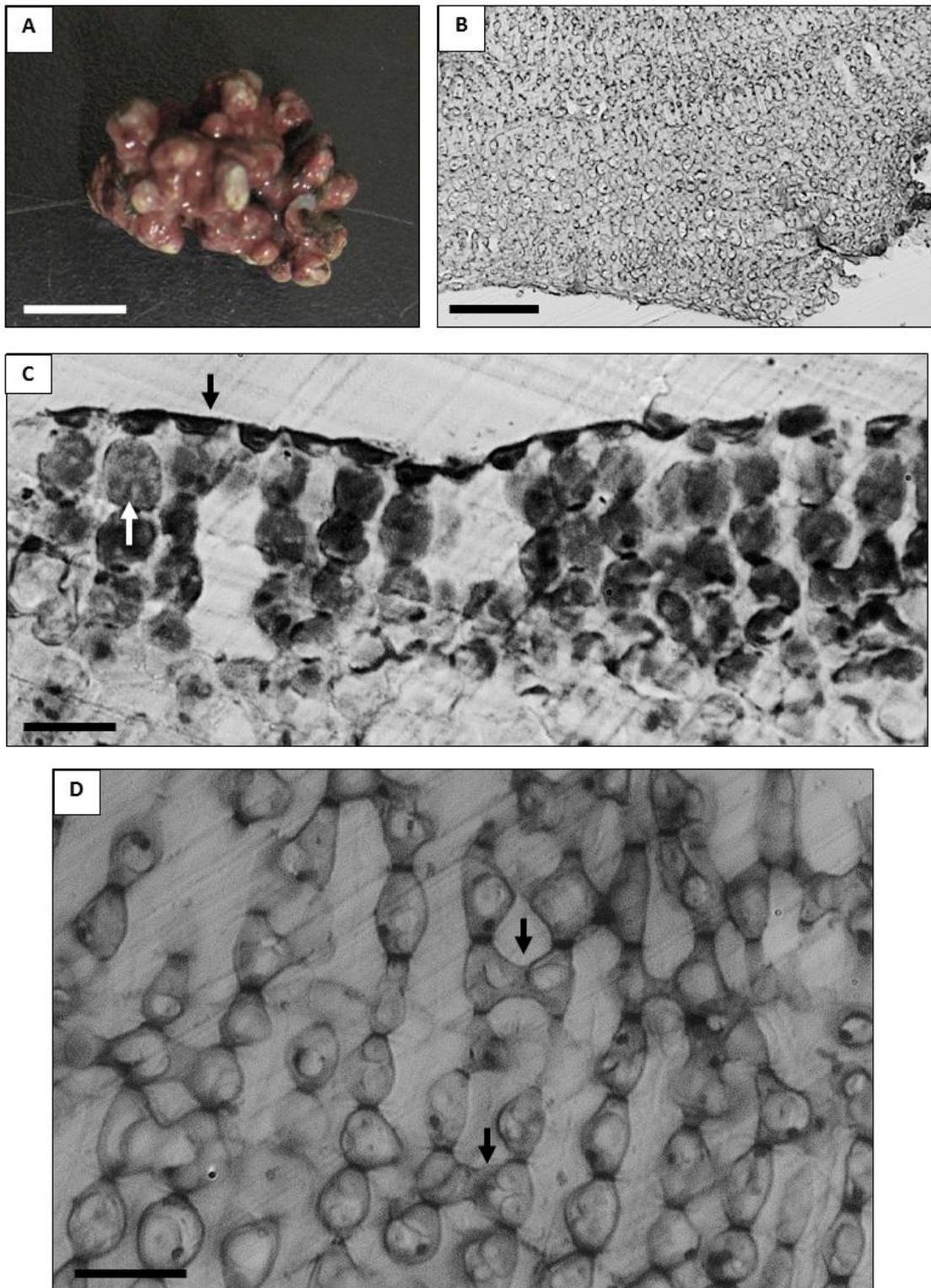


Figura 10. A. Morfologia de *Lithothamnion* sp. mostrando o talo protuberante. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de *Lithothamnion* sp. mostrando: B. A organização celular monômera coaxial. Escala: 100 μm ; C. Células epiteliais em forma de taça (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 10 μm ; D. Fusões celulares (setas). Escala: 10 μm .

Melobesioideae indeterminada - LMC 1 e LMC 16

Figura 11 A-F

Tabela 9

MATERIAL EXAMINADO: Ilha Feia, Armação dos Búzios, Brasil (22°43'19.2"S / 41°55'06.4"O – RB609181 - 9m).

ASPECTO GERAL DO TALO

Talo não geniculado, em forma de rodolito que possui forma de crescimento fruticoso com coloração vermelha (Fig. 11A).

ASPECTOS VEGETATIVOS

Talo pseudoparenquimatoso com organização celular monômera (Fig. 11C). Região do hipotalo (medula) com células cilíndricas medindo 12-20 µm de comprimento e 7,5-13 µm de diâmetro. Região do peritalo (córtex) com células arredondadas a cilíndricas medindo 8,0-14 µm de comprimento e 5,5-9,5 µm de diâmetro. Células epiteliais em forma de taça com 2,5-4,4 µm de comprimento e de 5,5-9,5 µm de diâmetro e células subepiteliais do mesmo tamanho ou maiores que as células subjacentes, medindo 6,5-12,5 µm de comprimento e 6,5-10,5 µm de diâmetro. (Fig. 11B). Células de filamentos adjacentes conectadas apenas por fusões celulares (Fig. 11E). Não foram observadas conexões celulares secundárias e tricocistos.

ASPECTOS REPRODUTIVOS – CONCEPTÁCULO ESPORANGIAL

Conceptáculo tetrasporangial multiporado elevado em relação à superfície do talo. Teto da câmara do conceptáculo tetrasporangial formado por 3-4 células. Câmara do conceptáculo tetrasporangial medindo 73,5-96 µm de comprimento e 274-437 µm de diâmetro (Fig. 11D). Poros do conceptáculo tetrasporangial em depressão (Fig. 11D - seta preta). Tetrasporângios contendo quatro tetrásporos zonadamente divididos. Cada tetrasporângio mede 74-96 µm de comprimento e 17-30,5 µm de diâmetro (Fig. 11D - seta branca).

ASPECTOS REPRODUTIVOS – CONCEPTÁCULO CARPOSPORANGIAL

Conceptáculo carposporangial uniporado elevado em relação à superfície do talo. Câmara medindo 238-257,5 µm de comprimento e 480-501 µm de diâmetro (Fig. 11F). Poro do conceptáculo carposporangial formado por 9-10 células. Carposporângio medindo 131,5-137 µm de comprimento e 66,5-85,5 µm de diâmetro, presente tanto no assoalho como nas paredes do conceptáculo carposporangial.

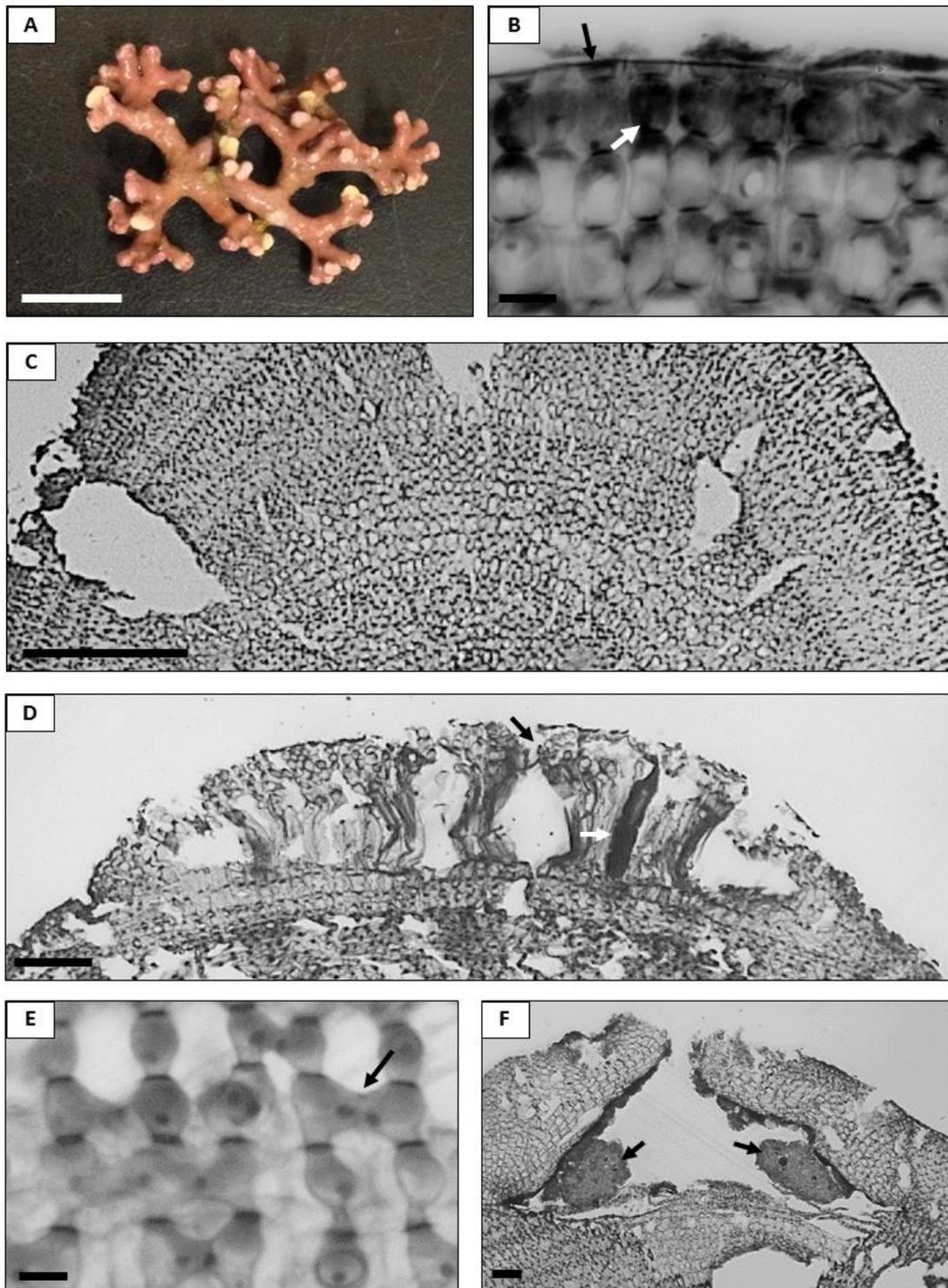


Figura 11. A. Morfologia de Melobesioideae indeterminada mostrando o talo fruticoso. Escala: 1 cm. Corte longitudinal de Melobesioideae indeterminada mostrando: B. As células epiteliais em forma achatada (seta preta) e subepiteliais arredondadas (seta branca). Escala: 10 μm ; C. A organização celular monômera. Escala: 100 μm ; D. Conceptáculo tetrasporangial multiporado com detalhe do esporo (seta preta) e tetrásporo (seta branca). Escala: 50 μm ; E. Fusões celulares (seta). Escala: 10 μm ; F. Conceptáculo carposporangial com carsporângios (setas). Escala: 50 μm .

Tabela 9. Resumo comparativo da Melobesioideae indeterminada com as espécies próximas de *Lithothamnion* para o Brasil.

Características	Melobesioideae indeterminada (Presente estudo)	<i>L. steneckii</i> (BA, Brasil) ¹	<i>L. brasiliense</i> (BA, Brasil) ²	<i>L. superpositum</i> (RN, BA, SC - Brasil) ³	<i>L. glaciale</i> (ES, Brasil) ⁴	<i>L. muelleri</i> (ES, Brasil) ⁴	<i>L. superpositum</i> (ES, Brasil) ⁵	<i>L. crispatum</i> (RJ, Brasil) ⁶
Forma de crescimento	Fruticoso	Incrustante a fruticoso	Incrustante a protuberante	Fruticoso	Fruticoso	Protuberante	Verrucoso	Verrucoso
Organização celular do talo	Monômero	Monômero	Monômero	Monômero	Monômero	Monômero	Monômera	Monômera
Formas das células epiteliais	Taça	Taça	Taça	Taça	Taça	Taça	Taça	Taça
Altura do conceptáculo esporangial (µm)	73,5-90	90-200	100-180	150-230	160-280	130-220	210-340	170-260
Diâmetro do conceptáculo esporangial (µm)	274-437	195-330	300-500	250-525	300-430	400-520	530-600	387-610
Nº de células no teto do conceptáculo esporangial	3-4	4-6	4-6	4-5	2-3	6-7	5-7	3-5
Tipo de conexão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular	Fusão celular
Poros dos conceptáculos esporangiais	Presente Em depressão	Presente 2 células ao redor	Presente	Presente Em depressão	Presente Nivelado	Presente Acima do teto conceptáculo	Presente Em depressão	Presente Em depressão
Células diferenciadas ao redor do poro	-	Presente	-	Presente	Presente	Ausente	Ausente	-

¹Mariath *et al.* (2012); ²Bahia *et al.* (2010); ³Farias *et al.* (2010); ⁴Henriques *et al.* (2011); ⁵Henriques (2010); ⁶Khader (2012).

IV.2- ANÁLISE MOLECULAR

No presente estudo foram geradas 16 sequências, sendo 10 sequências para o marcador *cox1* e 6 sequências para o marcador *psbA*.

IV.2.1- Análise do *cox1*

Para as análises geradas a partir do marcador *cox1* foi montada uma matriz de distância genética com 615 posições e 43 sequências incluindo sequências retiradas do GenBank (Anexo 1). Foi feita uma matriz de distância genética e a variação entre as sequências obtidas até o momento foi de 0-27,1% (Anexo 3). A partir desta matriz, foi possível identificar quais amostras são mais próximas entre si. A figura 12 apresenta o filograma referente às análises de Máxima Verossimilhança (ML) e os valores obtidos referentes às outras análises estão plotados nos ramos.

O grupo *Lithophyllum* possui apenas uma única sequência do presente estudo: *Lithophyllum* sp. (LMC 12). A divergência genética entre as espécies deste grupo foi de 0,2-16,3%. *Lithophyllum* sp. (LMC12) se agrupou com *Lithophyllum kotschyenum* Unger 1858 (HQ423072) com baixo suporte de *bootstrap* para NJ e ML (53%), porém apresentou 0,98 de probabilidade *a posteriori* para análise bayesiana. A divergência genética entre estas duas taxa foi de 11,3%, sendo considerado um valor alto para se considerar a mesma espécie. Apesar de ter apenas uma sequência disponível no GenBank para o gênero *Titanoderma* Nägeli 1858, até o momento, esta se mostrou como um grupo irmão do clado *Lithophyllum*. *Titanoderma* sp. (KJ418416) tem uma divergência de 14,4% com *Lithophyllum* sp. (LMC 12).

O clado monofilético formado pela espécie *Mesophyllum engelhartii*, proveniente apenas da Ilha Feia, possui valor máximo em todas as análises. O marcador *cox1* evidenciou uma maior identidade entre as sequências de *M. engelhartii* LMC 6 e LMC 9, com 0% de divergência genética. E também evidenciou a maior identidade de *M. engelhartii* LMC 8 e LMC 21 com divergência genética de 0,2%. A divergência final entre as quatro taxa variou de 0-1,6%. Como o *cox1* é um marcador variável, este valor ainda é considerado a mesma espécie. O taxon *Mesophyllum* sp.1 (LMC 10) é um grupo próximo ao *M. engelhartii* do presente estudo, entretanto a divergência variou de 10,8-11,2%. Além disso, as morfologias internas são completamente diferentes.

Mesophyllum sp.2 (LMC 11) se posicionou em um ramo isolado nas análises de ML, NJ e Bayesiana. Este taxon apresentou uma alta divergência interespecífica em relação às demais espécies do gênero *Mesophyllum* (14,7-17,8%). Se considerarmos as taxa Melobesioideae indeterminada (LMC1 e LMC16) sendo uma espécie de *Mesophyllum*, esta divergência aumenta para 20,1%, podendo ser considerado um possível gênero novo.

A espécie tipo *Mesophyllum lichenoides* (J.Ellis) Me.Lemoine 1928 da França (não é da localidade tipo) aparece como um grupo irmão dos taxa Melobesioideae indeterminada (LMC 1 e LMC 16) e de um agrupamento com dois clados, um contendo *Mesophyllum* sp. (Espanha) e outro com dois taxa de *Mesophyllum* sp. (Portugal). A divergência da espécie tipo com as do presente estudo variou de 18,3-18,8%. E entre os taxa de *Mesophyllum* sp. variou de 10,6-12,1%. A variação entre os taxa LMC1 e LMC 16 foi 0,3%.

O taxon *Lithothamnion* sp. (LMC 5) se posicionou como um grupo irmão dos clados de *Lithothamnion* e *Phymatolithon* Foslie 1898 com baixo valor em todas as análises, possuindo uma divergência interespecífica com o clado de *Lithothamnion* de 15,7-18,2% e com o clado de *Phymatolithon* de 15-17,4%.

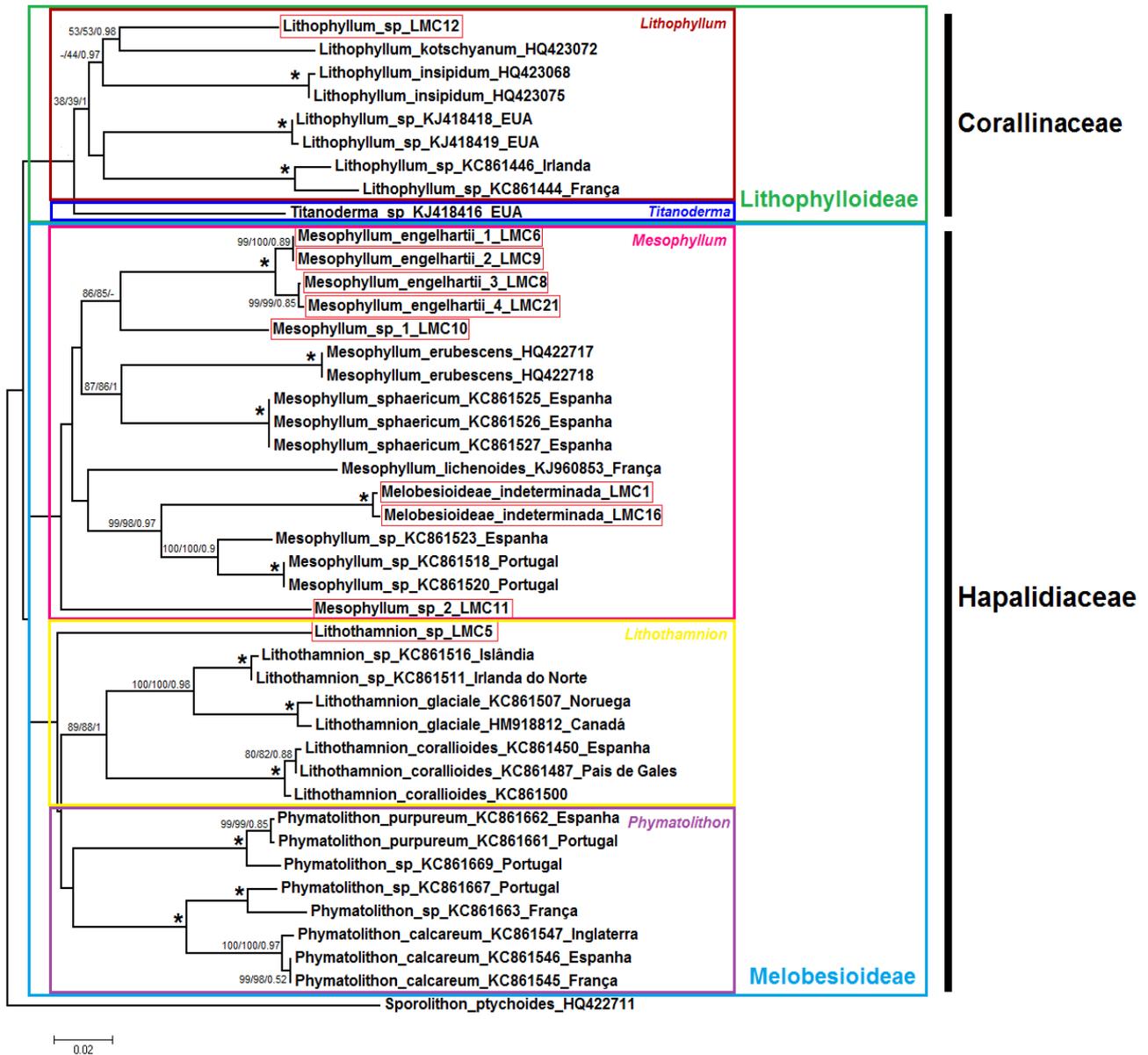


Figura 12. Filograma de Máxima Verossimilhança (ML) para as sequências do marcador *cox1*. Os valores de *bootstrap* (2000 réplicas) estão indicados nos ramos e foram plotados apenas os valores acima de 70 ou quando uma das análises obteve alto suporte. Os valores plotados nos ramos estão na seguinte ordem: *Neighbor-Joining* (NJ), ML e a probabilidade *a posteriori* da Análise Bayesiana. Os ramos com (*) possuem 100% de NJ e ML e 1,0 para probabilidade *a posteriori*. Os nomes circulado em vermelho são os taxa do presente estudo seguidas das suas respectivas siglas. As sequências disponíveis no GenBank estão seguidas do número de acesso e do país de coleta. Escala: substituição por sítio.

IV.2.2- Análise do *psbA*

Para a análise utilizando o marcador *psbA* foi gerado um alinhamento de 762 posições com 84 sequências incluindo as do GenBank (Anexo 2). Foi gerada uma matriz de distância genética que variou de 0-18,1%. (Anexo 4). A figura 12 apresenta o filograma referente às análises de Máxima Verossimilhança (ML) e os valores obtidos referentes às outras análises estão plotados nos ramos. Este filograma apresentou a topologia semelhante à árvore gerada para o alinhamento do *cox1*.

O filograma mostra que o agrupamento Lithophylloideae é monofilético. No primeiro clado o taxon *Lihophyllum* sp. (LMC 12) se agrupou com alto suporte em todas as análises com *Lithophyllum margaritae* (Hariot) Heydrich 1901 (JQ896253) proveniente da localidade tipo da espécie (México), entretanto a divergência foi de 3,7%, sendo considerada alta para afirmar ser a mesma espécie. *L. kotschy anum* (Japão) é um grupo irmão deste clado com 8,3% de divergência com LMC12. Outro taxon de *L. margaritae* (JQ896235), não é da localidade tipo, porém apareceu como um grupo irmão do agrupamento Lithophylloideae. Os dois taxa de *Titanoderma* sp., provenientes dos EUA, apareceram como grupo irmão do clado com os taxa de *L. kotschy anum* (Japão), *L. impressum* e *L. riosmenae* (N. Zelândia). As espécies tipo *L. incrustans*, provenientes da Espanha e França (não são da localidade tipo), formaram dois cladros com os taxa *L. dentatum* (Irlanda e Espanha, respectivamente) ambos com alto suporte. Os taxa *L. byssoides*, provenientes da Espanha, apareceram como grupo irmão deste clado com baixo suporte.

No grupo da Melobesioideae, o taxon *M. engelhartii* (LMC 9) formou um clado com 100% de *bootstrap* para NJ e ML e 1,0 de probabilidade *a posteriori*, com *M. engelhartii* (JQ896243) proveniente do México (divergência genética de 1,8%). *Mesophyllum* sp.1 (LMC 10) aparece como grupo irmão do clado de *M. engelhartii* com baixo suporte para NJ e ML (49%), porém 1,0 de de probabilidade *a posteriori*. O posicionamento de Melobesioideae indeterminada (LMC 1) foi semelhante ao encontrado para o *cox1*. O taxon se agrupou com *Mesophyllum* sp., proveniente da Espanha e Portugal, em um clado com alto valor de suporte de *bootstrap* (100% para NJ e ML) e 1,0 de probabilidade *a posteriori*. A divergência genética entre os taxa variou de 4,0-4,3%.

Mesophyllum sp.2 (LMC 11) está em um clado com valor de *bootstrap* baixo (valores abaixo de 70% não foram plotados). Este taxon aparece como grupo irmão do clado de *Phymatolithon repandum* (Foslie) Wilks & Woelkerling 1994 (N. Zelândia), cuja distância genética entre eles são 7,3-8,0%. O taxon *Lithothamnion* sp. (LMC 5) aparece como um grupo irmão dos cladros de *L. coralloides*, *L. crispatum*, *L. glaciale*, e *L. muelleri*. A divergência interspecífica variou de 5,8-8,0%. A menor divergência (5,8%) foram com as espécies *L. coralloides*, provenientes da França e Espanha. E a maior foi com *L. muelleri* (8%), proveniente do México.

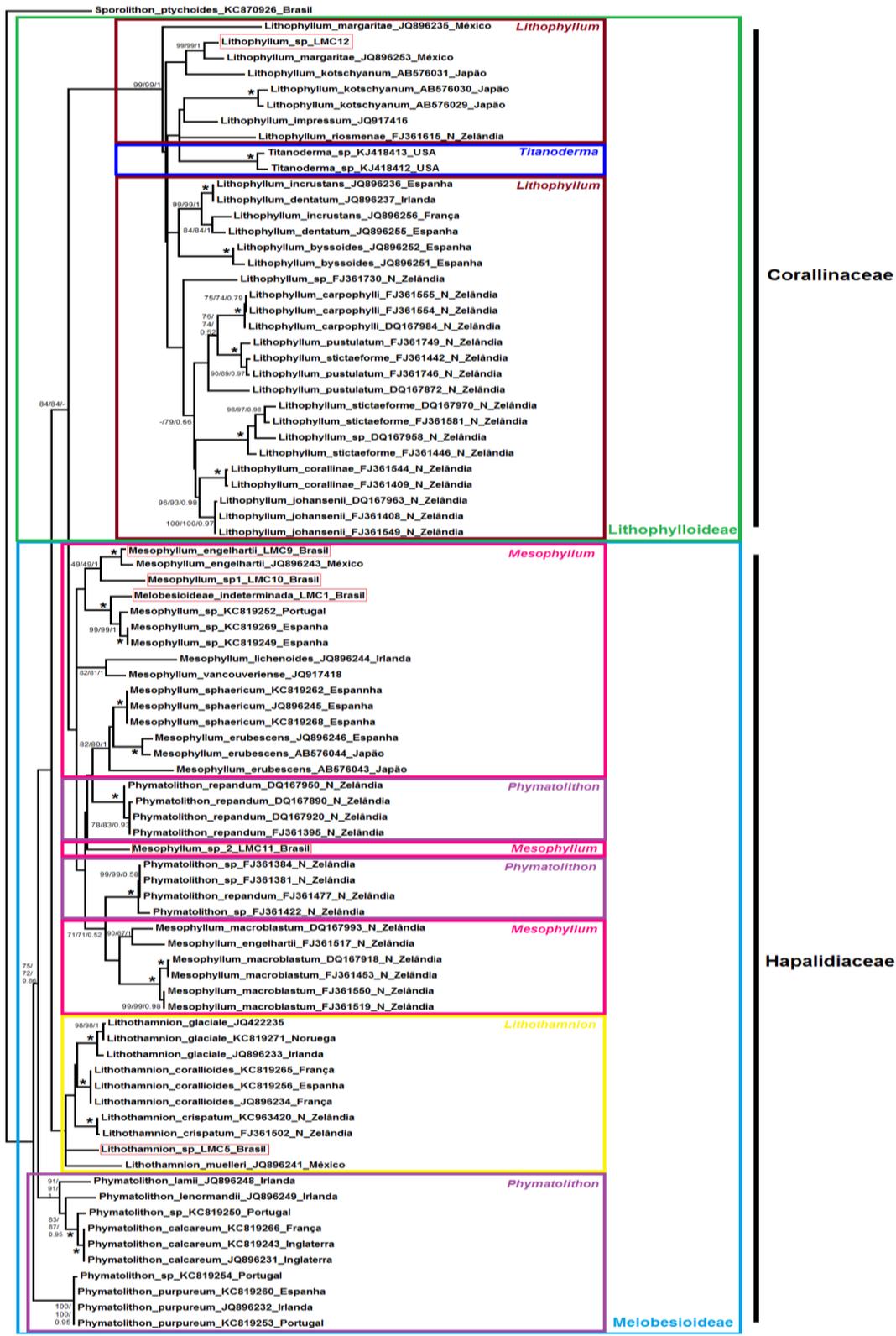


Figura 13. Filograma de Máxima Verossimilhança (ML) para as seqüências do marcador *psbA*. Os valores de *bootstrap* (2000 réplicas) estão indicados nos ramos e foram plotados apenas os valores acima de 70 ou quando uma das análises obteve alto suporte. Os valores plotados nos ramos estão na seguinte ordem: *Neighbor-Joining* (NJ), ML e a probabilidade *a posteriori* da Análise Bayesiana. Os ramos com (*) possuem 100% de NJ e ML e 1,0 para probabilidade *a posteriori*. Os nomes circulosados em vermelho são os taxa do presente estudo seguidas das suas respectivas siglas. As seqüências disponíveis no GenBank estão seguidas do número de acesso e do país de coleta. Escala: substituição por sitio.

V- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS RODOLITOS NO AMBIENTE

V.1- DENSIDADE DE RODOLITOS

A distribuição dos rodolitos pode ser esparsa ou agregada, conseqüentemente, a densidade de rodolitos influencia as formas e os tamanhos dado o quanto rolam no fundo. A densidade de rodolitos foi quantificada para cada ponto de coleta. No lado protegido, a densidade média foi de 37 rodolitos/m² e no lado exposto teve uma densidade média significativamente menor de 18 rodolitos/m² (Fig. 14; Tab. 10).

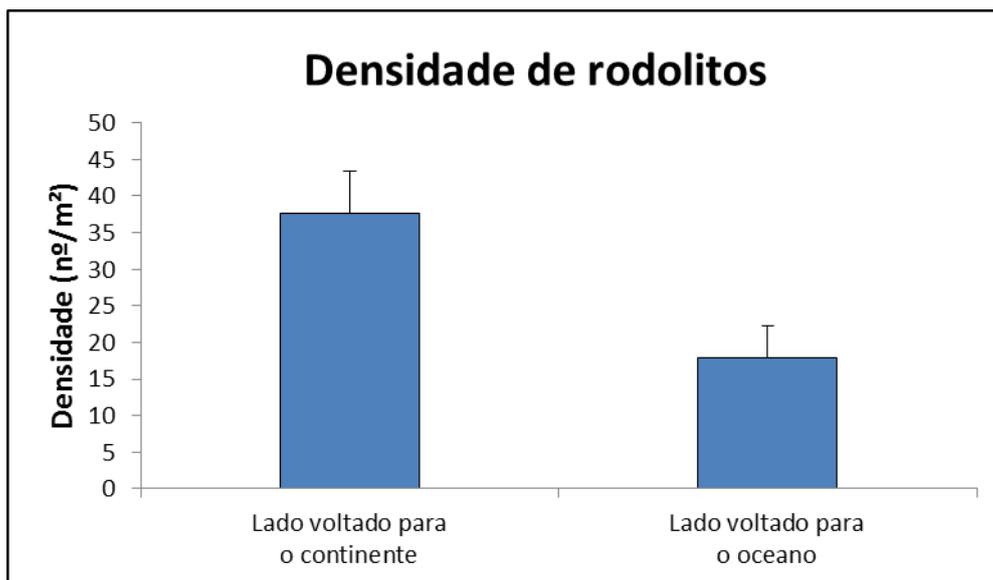


Figura 14. Densidade média de rodolitos para o lado protegido e exposto da Ilha Feia. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

Análise de variância unifatorial mostrou significância na diferença em densidades de rodolitos entre os lados protegido e exposto (Tab. 10).

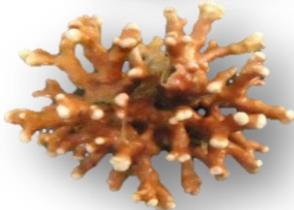
Tabela 10. Análise de variância da densidade de rodolitos nos pontos de estudo.

<i>Fonte da variação</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>
Pontos de Estudo	1	36,50667	7,455412	0,052418
Erro	4	4,896667		

V.2 – FORMA DE CRESCIMENTO DE ALGAS CALCÁRIAS

As formas de crescimento das algas calcárias não geniculadas encontradas na camada viva dos rodolitos variaram de incrustante a fruticosa (*sensu* Woelkerling *et al.*, 1993) (Tab. 11). Do lado voltado para o continente, foi observada a predominância da forma de crescimento fruticosa (58%), seguido da incrustante (20%), protuberante (17%) e verrucoso (5%). De outro modo, no lado voltado para o oceano predominou a forma incrustante (55%), seguida do verrucoso (26%), protuberante (19%), não sendo encontrada nenhuma forma de crescimento fruticosa. A forma laminar não foi encontrada em nenhum lado da ilha, por isso não foi considerada no presente estudo.

Tabela 11. Formas de crescimento segundo Woelkerling *et al.* (1993), encontradas nos dois pontos de estudo na Ilha Feia.

Forma de Crescimento	Descrição	Imagem
Incrustante	Plantas crostosas com superfície sem protuberâncias e ramos.	
Verrucoso	Plantas com protuberâncias verrucosas menores do que 3 mm de comprimento não ramificadas.	
Protuberante	Plantas com protuberâncias irregulares, geralmente nodulares e contíguas, raramente ramificadas.	
Fruticoso	Plantas com protuberâncias cilíndricas maiores que 3 mm de comprimento e ramificadas	

V.3- TAMANHO MÉDIO DOS RODOLITOS

Foi quantificado um total de 127 rodolitos nos dois pontos de coleta. Os rodolitos foram agrupados em cinco classes de tamanho conforme o diâmetro médio. A maior frequência do tamanho médio dos rodolitos ficou na classe de 16-30 mm seguida da classe de 31-45 mm, relativamente frequente em ambos os pontos de coleta (Fig. 15A-B). As classes de tamanho de 0-15 mm, 46-60 mm e >60 mm tiveram uma frequência inferior a 10%. Para a classe de tamanho >60 mm praticamente não foram observados rodolitos do lado voltado para o continente (Fig. 15A) e no lado voltado para o oceano teve uma menor frequência que as demais classes de tamanho (Fig. 15B).

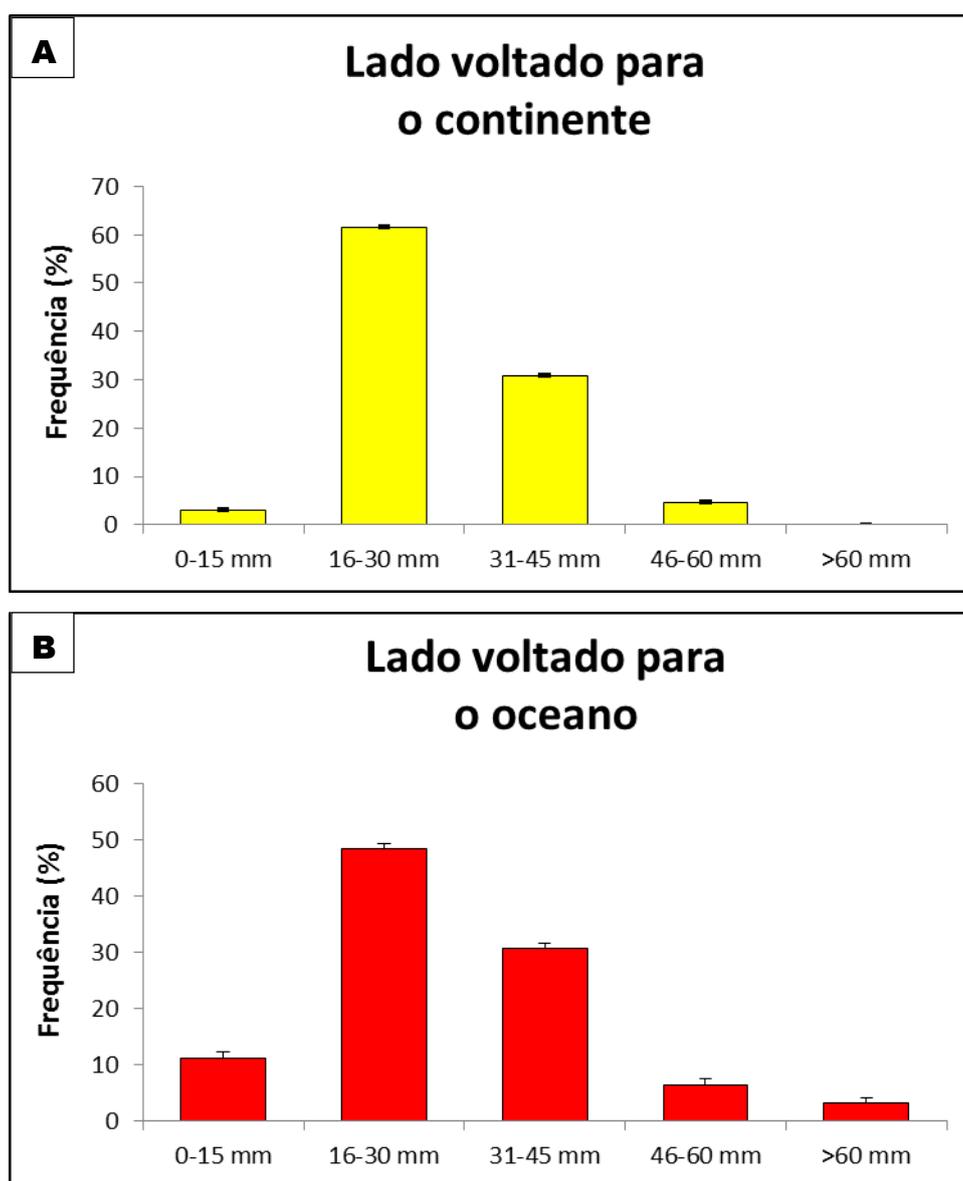


Figura 15. Frequência do diâmetro médio dos rodolitos por classes de tamanho nos pontos de estudo. (A) lado voltado para o continente e (B) lado voltado para o oceano. As barras acima das colunas representam o erro padrão.

V.4- ANÁLISE DO GRAU DE ESFERICIDADE

Nos três transectos realizados nos locais voltados para o oceano e para o continente, as formas esférica e sub-esférica foram as predominantemente encontradas, conforme a representação gráfica realizada através do programa TRI-PLOT (Graham & Midgley, 2000) (Fig. 16).

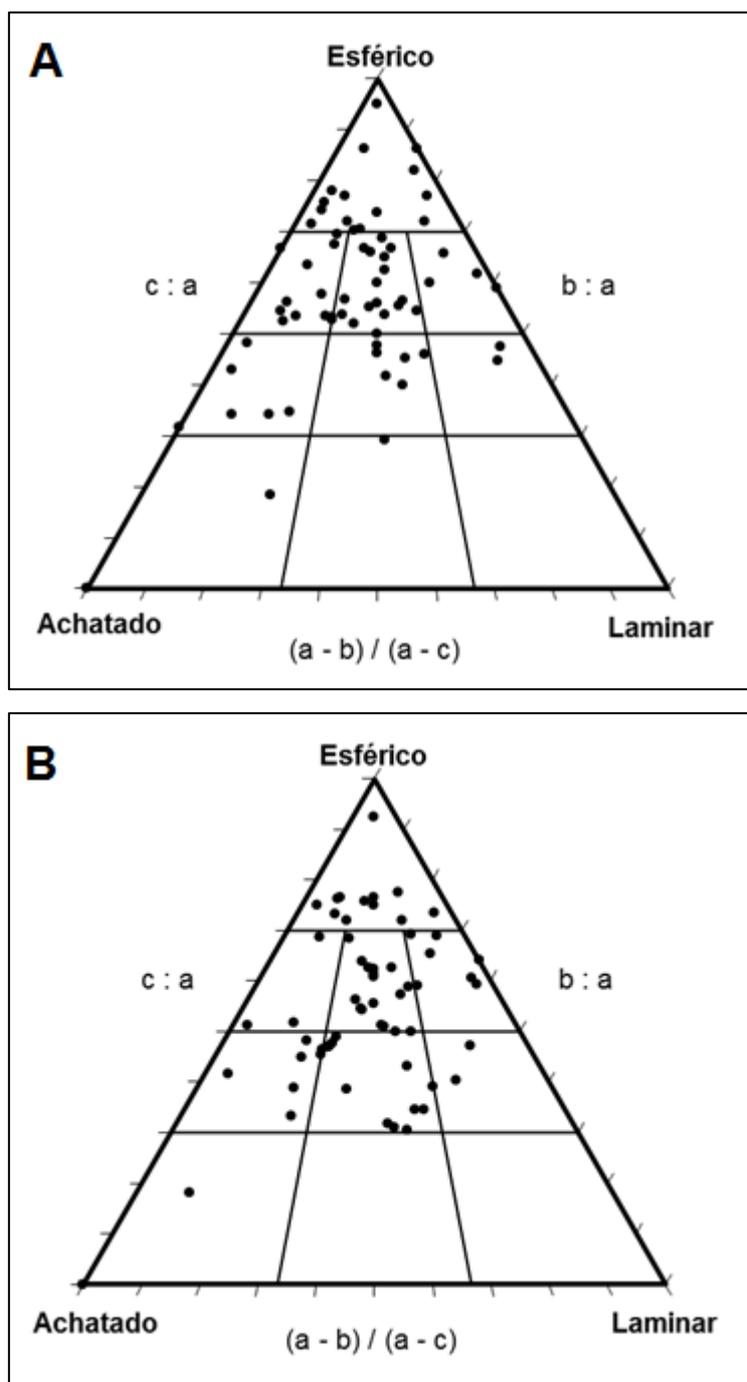


Figura 16. Diagrama de esfericidade dos rodolitos nos pontos de estudo: lado voltado para o continente (A) e lado voltado para o oceano (B). Diâmetros médios representados por: a= comprimento, b= largura, c= altura.

VI- DISCUSSÃO

VI.1- CONSIDERAÇÕES TAXONÔMICAS

Na família Corallinaceae, foi identificada a espécie *Lithophyllum* sp. (LMC 12). por apresentar as características diagnósticas do gênero. *Lithophyllum* é morfológicamente semelhante à *Titanoderma* Nägeli, da mesma subfamília Lithophylloideae. Porém, pode ser distinguido pela proporção de células basais em forma de paliçadas e não paliçadas. *Lithophyllum* é reconhecido por apresentar a maioria ou todas as células basais não paliçadas e *Titanoderma* por apresentar exclusivamente células basais em paliçadas (Campbell & Woelkerling, 1990). Contudo, Woelkerling & Campbell (1992) consideraram *Titanoderma* como sinônimo de *Lithophyllum* baseado no fato de que células basais em forma de paliçada também são encontradas em algumas espécies do gênero *Lithophyllum*. Recentemente, estes gêneros foram diferenciados pelo crescimento das margens de seus talos (Chamberlain, 1996). *Lithophyllum* possui uma margem polistromática, caracterizada por sucessivas divisões celulares (Woelkerling, 1996a), enquanto que *Titanoderma* tem a margem do talo distromática (Chamberlain 1996).

Para as algas calcárias não geniculadas apenas as características vegetativas e gametofíticas são insuficientes para a identificação final da espécie devido à semelhança das estruturas e a sobreposição das medidas. Por exemplo, a forma do teto dos conceptáculos espermatangiais, os espermatângios e as medidas das células epiteliais e do córtex de *Lithophyllum* sp. (LMC 12) são semelhantes aos encontrados nas espécies *L. coralline* (P.Crouan & H.Crouan) Heydrich, *L. johansenii* Woelkerling & Campbell, *L. margaritae* (Harriot) Heydrich e *L. stictaeforme* (Areschoug) Hauck (Tab. 5), não sendo possível identificar a nível específico o taxon *Lithophyllum* sp., devido à ausência de estruturas esporangiais. Entretanto, com o auxílio das análises moleculares juntamente com o conjunto de características vegetativas como células adjacentes unidas exclusivamente por conexões celulares secundárias, presença de células epiteliais achatadas (nunca em forma de taça) e crescimento dímero com células basais não paliçadas asseguraram que se trata de uma espécie do gênero *Lithophyllum*.

Dentro da família Hapalidiaceae foram encontrados dois gêneros da subfamília Melobesioideae: *Mesophyllum* Me. Lemoine e *Lithothamnion* Heydrich. Três taxa foram identificados para o gênero *Mesophyllum*: *M. engelhartii* (LMC 6, LMC 8, LMC 9 e LMC 21), *Mesophyllum* sp.1 (LMC 10) e *Mesophyllum* sp.2 (LMC 11), concordando com as características diagnósticas do gênero, segundo Woelkerling & Harvey (1993). *M. engelhartii* tem como características diagnósticas a presença de conceptáculos multiporados esporangiais de forma elevada em relação à superfície do talo, com assoalho da câmara plano e células que delimitam o canal do poro iguais em forma e dimensão às demais células do teto (Woelkerling & Harvey, 1993).

Estas características foram descritas no material examinado no presente trabalho. Esta espécie foi encontrada formando rodolitos nas profundidades de 1 a 100 m e com uma ampla distribuição no Brasil, sendo descrita para o Arquipélago Fernando de Noronha (Amado-Filho *et al.*, 2012a,b) e para os Estados de Espírito Santo (Farias, 2009; Amado-Filho *et al.*, 2010; Henriques, 2010 e Bahia, 2014), Rio de Janeiro (Figueiredo *et al.*, 2012) e Santa Catarina (Farias, 2009). No mundo, a espécie foi descrita para a África do Sul no Oceano Atlântico (Chamberlain & Keats, 1995) e para o Golfo da Califórnia, Austrália e Nova Zelândia no Indo-Pacífico (Woelkerling & Harvey, 1993; Harvey & Bird, 2008; Riosmena-Rodríguez & Vásquez-Elizondo, 2012).

Os espécimes de *M. engelhartii* no presente estudo estão de acordo com os encontrados na literatura, principalmente com os limites propostos para os espécimes do Pacífico. Neste estudo, o diâmetro (213-323 µm) e altura (80,5-133 µm) do conceptáculo esporangial se assemelha ao encontrado para o Golfo da Califórnia (142-319 µm de diâmetro e 74-159 µm de altura) e também para a Austrália (160-500 µm de diâmetro e 65-260 µm de altura). Para a mesma região do presente estudo, Khader (2012) e Figueiredo *et al.* (2012) encontraram as medidas maiores (222- 421 µm de diâmetro e 148-246 µm de altura; 345-491 µm de diâmetro e 217-241 µm de altura, respectivamente).

As características do canal do poro e do teto da câmara dos conceptáculos esporangiais foram consideradas estáveis por Woelkerling e Harvey (1993) e Keats e Chamberlain (1994). O número de células no teto do conceptáculo esporangial foi idêntico ao da África do Sul (4-6), e se sobrepôs com as outras espécies descritas na Tabela 6.

M. engelhartii se diferencia de *Mesophyllum erubescens* (Foslie) Me. Lemoine por este apresentar o canal do poro do conceptáculo esporangial delimitado por célula basal mais alongada que as demais células do teto do conceptáculo. Até o momento, *M. engelhartii* e *M. erubescens* são as únicas espécies do gênero publicadas para o Brasil. Deve-se ressaltar que Sissini (2013) identificou uma nova espécie para o gênero e, além disso, descreveu pela primeira vez para o Brasil *Mesophyllum cf. incisum*, com dados moleculares. Esta última espécie ficou como *conferatum* devido às divergências encontradas quando comparadas com sequências disponíveis no GenBank, sugerindo a existência de espécies distintas sob o mesmo epíteto.

Mesophyllum sp.1 (LMC 10) se diferencia de *M. engelhartii* e *Mesophyllum* sp.2 por apresentar células que delimitam o canal do poro mais estreitas que as demais células do teto do conceptáculo tetrasporangial, sendo a basal mais alongada (Woelkerling & Harvey, 1993). Na literatura, *Mesophyllum printzianum* Woelkerling & A.S.Harvey também apresenta células mais estreitas com a basal alongada, porém se distingue de *Mesophyllum* sp.1 por possuir o teto do conceptáculo esporangial em forma de vulcão (*volcano-like*) composto por borda periférica e

porção central afundada contendo os canais dos poros (Woelkerling & Harvey, 1993). Já *Mesophyllum incisum* (Foslie) W.H.Adey, que também possui células diferenciadas no canal do poro, tem a forma externa do teto do conceptáculo elevado e arredondado ou achatado sem se diferenciar em borda periférica e porção central (Woelkerling & Harvey, 1992), semelhante ao *Mesophyllum* sp.1. Porém, as medidas dos conceptáculos tetrasporangiais são inferiores. No presente estudo as medidas variam de 187-190 µm de diâmetro e 105-117 µm de altura e para *M. incisum* os valores são de 340-655 µm de diâmetro e 130-265 µm de altura. *M. lichenoides* (J.Ellis) Me. Lemoine se diferencia de *Mesophyllum* sp.1 por apresentar células curtas e quadradas sem célula basal alongada delimitando o canal do poro. E *M. erubescens* se diferencia por apresentar apenas células basais alongadas no canal do poro.

Mesophyllum sp.2 (LMC 11) possui características muito semelhantes ao *M. engelhartii*. As medidas dos conceptáculos esporangiais (74-116 µm de altura e 140-278 µm de diâmetro) e o número de células no teto do conceptáculo (3-6) se sobrepõem com as espécies descritas para o mundo, principalmente para a África (Chamberlain & Keats 1995) e Brasil (Farias, 2009). Porém, se diferencia de *M. crassiusculum* e *M. funafutiense* principalmente pelo número de células no teto do conceptáculo esporangial (6-10 e 7-10, respectivamente) e o diâmetro do conceptáculo esporangial (250-410 µm e 500-575 µm, respectivamente).

Para o gênero *Lithothamnion* foi identificado *Lithothamnion* sp. (LMC 5), concordando com as características descritas para o gênero, segundo Woelkerling (1988). Devido a ausência de estruturas reprodutivas de *Lithothamnion* sp. não foi possível definir a espécie, contudo, as análises moleculares corroboraram para a definição do taxon.

O taxon Melobesioideae indeterminada (LMC 1 e LMC 16) recebeu este nome devido a diferença encontrada entre a morfologia e as análises moleculares. Esta questão será discutida mais adiante. Morfológicamente, este taxon possui características de *Lithothamnion crispatum* Hauck, principalmente pela presença do poro em depressão. O diâmetro interno dos conceptáculos esporangiais (274-437 µm) e o número de células no teto do conceptáculo (3-4) se sobrepõem com as espécies descritas por Khader (2012) para o Estado do Rio de Janeiro (387-610 µm; 3-5). *Lithothamnion superpositum* Foslie descrito por Farias (2009) também possuem células em depressão e o diâmetro interno (250-525 µm) semelhante ao do presente estudo. *L. superpositum* se tornou um sinônimo de *L. crispatum* quando Basso *et al.* (2011) fizeram uma reavaliação de *L. crispatum* da coleção original de Hauck comparando com espécies de *Lithothamnion indicum* Foslie, lectotipo descrito no sul da Austrália por Wilks & Woelkerling (1995), o holótipo de *Lithothamnion heteromorphum* (Foslie) Foslie, e *L. superpositum* ocorrentes no Brasil (Farias, *et al.*, 2010), espécies descritas para a África do Sul (Keats *et al.*, 2000) e Sudeste da Austrália

(Harvey *et al.*, 2003b), sugerindo ser a espécie do Mediterrâneo como sinônimo das outras descritas para outras regiões do mundo.

VI.2- CONSIDERAÇÕES MOLECULARES

As análises moleculares foram feitas através de dois marcadores. O primeiro é o gene mitocondrial *cox1* que codifica a subunidade I da enzima citocromo *c* oxidase. Este marcador é um segmento de DNA relativamente curto, de aproximadamente 710 pb, tem sido escolhido como o principal marcador para o DNA *barcoding* (Hajibabaei *et al.* 2007). Em 2005, Saunders utilizou a região 5' do *cox1* em Rhodophyta, analisando 15 famílias em 6 ordens para tentar resolver problemas como plasticidade fenotípica, espécies crípticas e diferenças morfológicas observados neste filo, baseando-se no fato de que este marcador foi indicado para resolver os mesmos problemas em animais. Sendo assim, verificou que *cox1* se mostrou adequado para a distinção de espécies nos grupos de algas vermelhas estudados.

O segundo marcador utilizado no presente estudo é o gene plastidial *psbA* que codifica o polipeptídeo D1 do fotossistema II. O *psbA* é um segmento de DNA de aproximadamente 950 pb e vem sendo utilizado em algas vermelhas para diferentes níveis taxonômicos por ser de fácil amplificação (Bahia *et al.*, 2013; Saunders & Moore 2013). Broom *et al.* (2008) afirmaram que este marcador é mais variável do que nSSU, mostrando uma variação significativa entre gêneros e entre os taxa. No entanto, a variação pode ser pequena dentro de um mesmo taxon. O uso de vários marcadores moleculares está se tornando comum em muitos trabalhos de reconstrução filogenética (De Clerck *et al.*, 2006; Lane *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2006; Broom *et al.*, 2008). Esta combinação de marcadores moleculares mais e menos variados permite resolver problemas infragenéricos, interespecífico e intraespecífico.

Para o marcador *cox1*, a divergência intragenérica de *Lithophyllum* variou de 0,2-16,3%. No gênero *Mesophyllum* foi de 0-20,1% (considerando *Melobesioideae* indeterminada como uma espécie de *Mesophyllum*). *Lithothamnion* apresentou a variação de 0,2-18,2% e *Phymatolithon* variou de 0,2-14,9%. O limite máximo de variação intragenérica de *Phymatolithon* foi semelhante ao encontrado por Milstein *et al.* (2012) para espécies do gênero *Porphyra* C.Agardh, cuja variação foi 9,1-14,9% e também para as espécies do gênero *Mazzaella* G.De Toni, coletadas no Canadá, cuja divergência foi de 5,3-13,7% (Saunders, 2005). Entre espécies de *Gracilaria*, Yang *et al.* (2008) reportaram uma variação maior (3,2-16,1% - 41 a 201 pb) em um total de 1245 posições, se assemelhando aos valores encontrados para os gêneros *Lithophyllum*, *Mesophyllum* e *Lithothamnion*. Por ser um gene mitocondrial, o marcador *cox1* é extremamente variável e o alto valor de divergência genética é esperado.

O valor da divergência intraespecífica, para o marcador *cox1*, encontrada entre os taxa identificados como *M. engelhartii* (LMC 6, LMC 8, LMC 9 e LMC 21) do presente estudo variou de 0-1,6% (1-13 pb). Este valor está acima do esperado para outros gêneros do filo Rhodophyta. Yang *et al.* (2008) encontraram uma divergência de 0,9% (11 pb) para espécie *Gracilaria vermiculophylla* da Coréia e Japão. Medeiros (2013) encontrou também uma divergência intraespecífica de 0-0,9% (0-6 pb) para diferentes espécies de Rhodophyta. Entre os taxa de Melobesioideae indeterminada (LMC1 e LMC 16) a variação intraespecífica foi de 0,3%. Este valor está dentro do esperado para Saunders (2005) para Gigartinales e Rhodymeniales (0-0,3% - 0-2 pb). Vieira-Pinto (2011) também encontrou valor semelhante para o gênero *Lithophyllum* para o sul do Brasil (0,2-0,4%).

A menor divergência encontrada para *Mesophyllum* sp.1 (LMC 10) foi de 10,8% com a espécie *M. engelhartii* (LMC8 e LMC21). Já *Mesophyllum* sp.2 (LMC 11) possui a menor divergência (14,6%) com *Lithothamnion* sp. proveniente da Irlanda do Norte. *Lithophyllum* sp. (LMC 12) teve a sua menor divergência (12%) com a espécie *L. kotschyanum* (HQ423072) proveniente do Hawai. *Lithothamnion* sp. (LMC 5) possui a menor divergência (15%) com *Phymatolithon calcareum* (KC861547, KC861546; KC8611545) proveniente da Inglaterra, Espanha e França, respectivamente. Esses valores, apesar de ser o menor para os taxa do presente estudo, são considerados alto para afirmar ser da mesma espécie ou até mesmo gênero. Devido às poucas sequências de *cox1* para algas calcárias não geniculadas, o marcador não ajudou na definição de espécie, apenas para corroborar na definição final do gênero juntamente com a morfologia.

Para o marcador *psbA* a divergência intragenérica/interespecífica foi de 0,3-13,9% para *Lithophyllum*, 0-12% para *Mesophyllum*, 0-8% para *Lithothamnion*. As variações obtidas para este marcador está um pouco acima do limite da faixa de amplitude de variação verificada por Bahia *et al.* (2013) para o gênero *Sporolithon* (9,5-10,4%). Para Dictyota, Tronholm *et al.* (2010) encontraram a variação de 2-8,1%. Seo *et al.* (2003) e Yang & Boo (2004) encontraram uma divergência de 1,87-6,24% e 1-11,1%, respectivamente, para Ceramiaceae.

As variações intraespecíficas para o *psbA* corroboraram com a identificação de *M. engelhartii*. A divergência encontrada entre a espécie do presente estudo (LMC 9) e a do México (JQ896243) foi de 1,8% (15 pb). Tronholm *et al.* (2010) encontraram uma divergência intraespecífica para *Dictyota implexa* de 1,4% e para *Dictyota spiralis* de 1,7%. Entretanto a maioria das divergências intraespecíficas para o marcador *psbA* são inferiores a 1%.

Lithophyllum sp. (LMC 12) apesar de estar em um clado com alto suporte com *L. margaritae* (JQ896253), a divergência entre eles foi de 3,7% (40 pb) sendo considerada uma divergência interespecífica. Meier *et al.* (2008) afirmaram que devido ao uso de poucos espécimes

por espécies (em alguns casos um único espécime por espécie), não é possível estabelecer um limite confiável entre os valores de divergências intraespecífica e interespecífica para os diferentes gêneros, sendo necessário para que as identificações das espécies sejam bem sucedidas.

Mesophyllum sp.2. (LMC 11) é morfologicamente semelhante ao *M. engelhartii*. Apesar da semelhança, a alta divergência genética encontrada para os marcadores analisados sugere a existência de espécies crípticas. Broom *et al.* (2008) observaram uma grande variedade genética em *M. erubescens* e *Spongites yendoi* da Nova Zelândia sugerindo que existem espécies crípticas dentro destes taxa. Cianciola *et al.* (2010) afirmaram que o aparecimento de espécies crípticas pode ser resultado de uma convergência evolutiva ou de um processo de especiação recente.

Melobesioideae indeterminada (LMC 1 e LMC 16) possui todas as características morfológicas diagnósticas do gênero *Lithothamnion*, porém, através das análises moleculares, o taxon Melobesioideae permanece indeterminado porque se agrupou no clado de *Mesophyllum* para ambos os marcadores analisados. Usando a divergência genética do *psbA*, por ser mais conservado que o *cox1*, a variação das espécies do gênero *Lithothamnion* com LMC1 foi de 9,7-11,5% e para as espécies de *Mesophyllum* a variação foi 4-10,9%. Risomena-Rodriguez (comunicação pessoal) também observou que algumas espécies morfologicamente identificadas como *Lithothamnion* estão se agrupando com os taxa de *Mesophyllum*. Athanasiadis & Ballantine (2014) sugeriram a criação de um novo gênero, para melhor acomodar as espécies de *Mesophyllum*, entretanto a caracterização do gênero está baseada principalmente em características gametofíticas e as análises moleculares foram feitas com sequências de outros estudos.

A diferença entre os gêneros *Lithothamnion* e *Mesophyllum* é a forma das células epiteliais. Para *Lithothamnion* as células epiteliais são em forma de taça e para *Mesophyllum* são arredondadas ou achatadas, mas nunca em forma de taça. Robinson (2013) relatou que a utilização de células epiteliais para reconstrução do estado ancestral de caracteres morfológicos para os gêneros *Lithothamnion*, *Mesophyllum* e *Phymatolithon* não são consistentes com dados moleculares. Burdett *et al* (2012) demonstraram que estas células podem ser danificadas por certas condições ambientais como, por exemplo, baixo pH. Devido à inconsistência morfológica com a molecular, foi escolhido o nome Melobesioideae indeterminada para caracterizar este taxon, necessitando de mais análises moleculares e cortes histológicos para definir exatamente o nome final do taxon.

Para a subfamília Lithophyloideae, os filogramas gerados, para ambos os marcadores, mostraram que o clado de *Lithophyllum* é monofilético com alto suporte para todas as análises. Este resultado corrobora com o encontrado por Bailey (1999) que verificou que as espécies tipo de *Lithophyllum* (*Lithophyllum incrustans*) e de *Titanoderma* (*Titanoderma pustulatum*) são filogeneticamente distintas (com base no marcador molecular 18S rRNA). Porém, Bittner *et al.*

(2011), fizeram análises multigênicas com marcador mitocondrial (*cox1*), plastidial (*psbA*) e nuclear (SSU e LSU) e concluíram que a subfamília Lithophylloideae mantém a monofilia, porém os gêneros *Lithophyllum* e *Titanoderma* necessitam de mais estudos anatômicos e moleculares para melhor enquadrar estas duas taxa. Apesar da análise filogenética feita por Bailey (1999) encontrar a monofilia entre *Lithophyllum* e *Titanoderma*, a pequena quantidade de sequências analisadas (uma para *Titanoderma* e duas para *Lithophyllum*) faz com que este resultado seja revisto.

Para ambos os marcadores estudados, a família Hapalidiaceae não recuperou o monofiletismo como havia sido descrito por Peña *et al.* (2011) que utilizaram o marcador SSU que é mais conservado e por Broom *et al.* (2008) que fizeram análises com *psbA* e SSU. No presente estudo, o filograma gerado para *cox1* mostrou a formação de dois clados para o clado de Melobesioideae. O primeiro clado, onde só encontra espécies do gênero *Mesophyllum*, teve um baixo suporte para todas as análises. O segundo clado, onde estão posicionadas espécies do gênero *Lithothamnion* e *Phymatolithon*, também não tiveram suporte para ambas as análises. A análise feita com *psbA* formaram-se quatro clados. O primeiro clado teve alto suporte onde estão posicionadas as espécies de *Lithophyllum* e *Titanoderma*. O segundo clado é formado por taxa de *Mesophyllum* e *Phymatolithon*, possuindo baixo suporte. O terceiro clado se refere aos taxa de *Lithothamnion* e *Phymatolithon*, também com baixo suporte. E por último, um clado com quatro espécies de *Phymatolithon* também com baixo suporte para ambas as análises.

VI.3- CONSIDERAÇÕES SOBRE O TAMANHO E FORMAS DOS RODOLITOS

As algas calcárias não geniculadas possuem uma alta plasticidade morfológica (Woelkerling *et al.*, 1993). A esfericidade dos rodolitos e a forma de crescimento das algas calcárias podem variar com as condições ambientais, tais como a luz, a disponibilidade de nutrientes, temperatura, movimento da água e as espécies que os compõem (Foster, 2001). O resultado mostrou que os rodolitos em ambos os lados da Ilha são predominados por formas esféricas e sub-esféricas. Esse padrão concorda com os resultados encontrados por Foster *et al.* (1997), em águas rasas (5-12 m), onde 100% dos rodolitos tem formas esféricas no Golfo da Califórnia. No Brasil, Amado-Filho *et al.* (2007) também afirmaram que os rodolitos encontrados nas profundidades entre 4 a 55 m são esféricos. Outros trabalhos afirmaram que rodolitos com formas esféricas e elipsóides em águas rasas são provavelmente resultados de ambientes com movimentação intensa da água (Bosellini & Ginsburg, 1971; Bosence, 1983a, b; Minnery, 1990; Steller & Foster, 1995). Em contraste, trabalhos como Bassi *et al.* (2009), Sciberras *et al.* (2009) e, Figueiredo *et al.* (2012) mostraram que rodolitos encontrados em águas profundas possuem uma maior frequência de formas planas.

No presente estudo, o diâmetro médio dos rodolitos, na faixa entre 16-30 mm para ambos os pontos estudados, foi abaixo da maioria dos bancos de rodolitos no Brasil. No extremo sul de distribuição, Gherardi (2004) encontrou rodolitos com diâmetro médio de 50-100 (200) mm, entre 7-20 m de profundidade no banco do Arvoredo. No Estado do Espírito Santo, em profundidades entre 4-18 m, a classe de tamanho dominante foi de 31-60 mm (Amado Filho *et al.*, 2007), atingindo a 18 m de profundidade um diâmetro de (40) 100 (240) mm (Villas-Boas *et al.*, 2014). Em águas oceânicas a 100 m de profundidade, o tamanho médio de 40-60 mm foi registrado para a região de Cabo Frio (Figueiredo *et al.*, 2012). Tamanho próximo foi encontrado em águas rasas, profundidades até 5 m, onde a média foi 27,8 mm para um banco de rodolitos no Estado da Bahia (Bahia *et al.*, 2010). Rodolitos menores que 40 mm em diâmetro, no entanto, foram encontrados no Estado do Rio Grande do Norte (Testa & Bosence, 1999). Rodolitos extremamente pequenos, entre 3-10 mm de diâmetro, foram registrados em bancos rasos sujeitos a fortes ondulações ou correntes, como nos bancos do Arvoredo (Gherardi, 2004) e Arquipélago dos Abrolhos (Figueiredo *et al.*, 2007).

O presente resultado concorda ainda com o tamanho dos rodolitos descritos em outros bancos rasos no mundo, com diâmetros de 10-40 mm no Golfo da Califórnia (Steller *et al.*, 2003), e em maiores profundidades onde exista um forte movimento de correntes, onde o diâmetro não ultrapassa 40-50 mm, como no Mediterrâneo (Sciberras *et al.*, 2009). Mundialmente, os tamanhos de rodolitos vivos variam de 10 a mais de 300 mm, com médias mais comumente na faixa de 40-80

mm (Bosellini & Ginsburg, 1971; Scoffin *et al.*, 1985; Littler *et al.*, 1991; Konar *et al.*, 2006; Pena & Bárbara, 2008; Rosas-Alquicira *et al.*, 2009; Sciberras *et al.*, 2009).

Na Ilha Feia, devido a sua proximidade com o rio Una, há uma grande quantidade de sedimento suspenso na coluna d'água, tornando-a turva, possivelmente sendo a causa do tamanho médio inferior ao da maioria dos outros bancos. Diferenças no diâmetro médio de rodolitos podem ser explicadas devido à influência da irradiância, reduzida pela maior quantidade de partículas suspensas na água ou depositadas em uma fina camada no fundo, o que pode limitar a fotossíntese e conseqüentemente o crescimento das algas (Wilson *et al.*, 2004; Harrington *et al.*, 2005; Riul *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2012; Villas-Bôas *et al.*, 2014). Bahia *et al.* (2010) justificaram o tamanho médio inferior dos rodolitos devido ao aporte de sedimentos pela proximidade do continente, onde é estreita a plataforma continental brasileira (distante 20 km da costa), em contraste às águas claras em profundidades maiores que 20 m (distância de 2 km da costa).

Um conjunto de fatores (sedimentação e hidrodinamismo) deve explicar a dominância da forma de crescimento fruticosa em relação à forma incrustante das algas calcárias nos rodolitos. No lado da ilha voltado para o continente, a maioria dos rodolitos foram fruticosos, densamente ramificados, enquanto que a forma incrustante dominou no lado voltado para o oceano. A abundância da forma fruticosa indica que o banco seja regido pela ação do hidrodinamismo (Bosence, 1983b). Rodolitos esféricos e densamente ramificados tem sido reportado como típicos de regimes com alto hidrodinamismo (Steneck, 1986; Di Geronimo & Giaccone, 1994; Steller *et al.*, 2003; Gherardi, 2004; Figueiredo *et al.*, 2007; Sciberras *et al.*, 2009). Segundo Bosence (1976), a ramificação do talo aumenta com a intensidade da exposição às ondas, ou seja, quando o rodolito rola no fundo resulta no desgaste das extremidades apicais de espécies ramificadas, ocasionando um crescimento intercalar ou lateral, aumentando o número de ramos.

Por outro lado, a forma de crescimento incrustante como dominante (55%; sem ramos), sugere que uma parte do banco seja de um ambiente exposto a um menor hidrodinamismo no fundo. Porém, como todos os rodolitos tendem para formas esféricas e a densidade dos rodolitos foi baixa, próxima a descrita por Amado-Filho *et al.* (2007) é provável que haja grande influência de correntes de fundo assim como caracterizado por Steller *et al.* (2009) para um banco de rodolitos no Golfo da Califórnia. A ausência da forma laminar pode ser explicada pelo fato de que essas formas geralmente ocorrem em condições relativamente calmas e em sedimentos lodosos (Sciberras *et al.*, 2009).

Fatores ambientais como condições hidrodinâmicas, profundidade, morfologia da costa ou bioturbação, têm sido relatados na literatura como as causas das diferentes formas de crescimento encontradas nos rodolitos (Bosellini & Ginsburg 1971, Riosmena-Rodríguez *et al.*, 1999; Goldberg,

2006; Gagnon *et al.*, 2012). Steller & Foster (1995) sugeriram que, devido à variabilidade na densidade de ramos e os diferentes tamanhos de rodolitos encontrados no Golfo da Califórnia, a morfologia dos rodolitos não poderia ser influenciada apenas pela movimentação da água.

De um modo geral a forma do rodolito é a mesma (grau de esfericidade), porém existe uma variabilidade na morfologia (forma de crescimento) do talo das algas calcárias. No presente estudo, foram coletados e identificados como *M. engelhartii* quatro indivíduos (LMC 6, LMC 8, LMC 9 e LMC 21). Esta espécie foi a dominante na área de estudo, possuindo uma grande plasticidade fenotípica. A forma de crescimento variou de incrustante, verrucosa a protuberante para o mesmo lado da ilha (voltado para o oceano). Esta variedade de formas de crescimento observadas neste banco de rodolitos foi maior do que em outros bancos do mundo. Na Austrália (Woelkerling & Harvey, 1993) e no Brasil (Amado-Filho *et al.* 2010; Khader 2012) foram observados rodolitos com formas de crescimento incrustante a verrucoso. No Golfo da Califórnia (Riosmena-Rodríguez & Vásques-Elizondo, 2012) foi observada somente a forma verrucosa. Figueiredo *et al.* (2012) observaram somente o crescimento protuberante em profundidade de 90-100 m na Bacia de Campos. Porém Henriques (2010) encontrou o crescimento incrustante na profundidade de 65 m no Espírito Santo. Todavia não foi observada a forma fruticosa formando a espécie *M. engelhartii*.

Outros autores verificaram plasticidade morfológica para uma mesma espécie, assim como no presente estudo. Riosmena-Rodríguez *et al.* (1999) reexaminaram as espécies identificadas para o gênero *Lithophyllum* e concluíram que todas as espécies deste gênero, no Golfo da Califórnia, eram apenas uma espécie polimórfica: *L. margaritae*. Em 2002, Schaeffer *et al.* analisaram quatro diferentes populações de *L. margaritae* com duas formas de crescimento (foliosa e fruticosa) para o Golfo da Califórnia e afirmaram, através de ferramentas moleculares, que as duas morfologias são geneticamente distintas possuindo uma troca genética limitada entre as diferentes formas de crescimento, sugerindo que as formas de crescimento dos rodolitos parecem ser resultado de uma interação entre composição genética e condições ambientais.

Morfologicamente, as medidas das estruturas reprodutivas das diversas formas de crescimento de *M. engelhartii*, foram semelhantes, principalmente a anatomia do conceptáculo tetrasporangial e molecularmente, a divergência genética encontrada entre os indivíduos foi no máximo 1,6% (para o marcador *cox1*). O resultado acima concorda que as formas de crescimento dos rodolitos podem ser causadas por uma característica genética, ou seja, uma característica plesiomórfica herdada de um ancestral comum (Robinson *et al.*, 2013 *apud* Hernández-Kantum dados não publicados) e não apenas por influência ambiental.

VII- CONCLUSÕES

Quanto às características das algas calcárias não geniculadas e a sua identificação com bases morfológicas e moleculares, conclui-se que:

1. Os dados obtidos neste estudo representam um avanço na taxonomia das algas calcárias não geniculadas do Brasil, porque demonstra pela primeira vez que a identificação de uma espécie com grande plasticidade baseada em características morfológicas possa ser confirmada com base molecular.

2. O uso da ferramenta molecular mostrou que alguns caracteres morfológicos utilizados, até o momento, na taxonomia moderna, não possuem validade para distinguir gêneros e espécies, sendo necessário urgentemente uma reavaliação detalhada baseada em características morfoanatômicas e moleculares, principalmente para delimitar os gêneros das algas calcárias.

3. Foram identificados seis taxa, entre os quais tendo o primeiro registro de *Mesophyllum engelhartii* para a região da Armação dos Búzios, confirmado com base em caracteres morfológicos e moleculares.

4. *Mesophyllum* sp.1 apresentou características morfológicas e moleculares distintas, podendo ser uma possível espécie nova para a ciência.

5. *Mesophyllum* sp.2 apresenta características morfoanatômicas de *M. engelhartii*, porém possui uma alta divergência genética, sendo uma possível espécie críptica.

6. O taxon Melobesioideae indeterminada apresentou conflito entre características morfoanatômicas e moleculares, sendo necessária uma reavaliação cautelosa para delimitar o gênero.

7. Os dois marcadores utilizados (*cox1* e *psbA*) foram eficientes na separação a nível específico apresentando filogramas semelhantes.

Quanto às características morfológicas dos rodolitos e a influência do hidrodinamismo conclui-se que:

1. O grau de esfericidade dos rodolitos não teve diferença significativa para os dois lados da ilha, a despeito da densidade de rodolitos ser significativamente menor entre os locais, provavelmente devido a diferença na ação do hidrodinamismo, quer seja por ondulações e/ou correntes de fundo.

2. As classes de tamanho mais frequentes foram as mesmas para ambos os lados da ilha, sendo observados menores tamanhos dos rodolitos em relação a outros bancos de rodolitos no

Brasil, o que indica uma limitação no crescimento das algas calcárias, quer seja pela elevada turbidez ou sedimentação no local de estudo.

3. A forma de crescimento fruticoso foi a mais frequente no lado da ilha voltado para o continente, porém não houve uma dominância para quaisquer formas de crescimento no lado voltado para o oceano, o que pode ser associado a diferentes condições ambientais.

4. *Mesophyllum engelhartii* apresentou três formas de crescimento distintas (verrucoso, protuberante e incrustante) para o mesmo lado da Ilha. E Melobesioideae indeterminada apresentou forma de crescimento fruticoso para ambos os lados da Ilha Feia.

VIII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adey, W.H. 1966. Distribution of saxicolous crustose corallines in the Northwestern North Atlantic. *Journal of Phycology*, v. 2, n. 2, p. 49-54.
- Adey, W.H. 1970. A revision of the Foslie crustose coralline herbarium. *Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Skrifter*, v. 1, p. 1-46.
- Aguirre, J., Perfectti, F. & Braga, J.C. 2010. Integrating phylogeny, molecular clocks and the fossil record in the evolution of coralline algae (Corallinales, Rhodophyta). *Paleobiology*, v. 36, p. 519-533.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, v. 215, p. 403-410.
- Amado-Filho, G.M., Maneveldt, G., Marins, B.V., Manso, R.C.C., Pacheco, M.R., & Guimarães, S.P.B. 2007. Structure of rhodolith beds from a depth gradient of 4 to 55 meters at the south of Espírito Santo State coast, Brazil. *Ciencias Marinas*, v. 33, n.4, p. 399-410.
- Amado-Filho, G.M., Maneveldt, G., Pereira-Filho, G.H., Manso, R.C., Bahia, R.G., Barreto, M.B.B., Guimaraes, S.M.P.B. 2010. Seaweed diversity associated with a Brazilian tropical rhodolith bed. *Ciencias Marinas*, v. 36, p. 371-391.
- Amado-Filho, G.M., Moura, R.L., Bastos, A.C., Salgado, L.T., Sumida P.Y.G., Guth A.Z., Francini-Filho R.B., Pereira-Filho, G.H., Abrantes D.P., Brasileiro, P.S., Bahia, R.G., Leal, R.N., Kaufman, L., Kleypas, J., Farina, M., Thompson, F.L. 2012a. Rhodolith Beds are major CaCO₃ bio-factories in the Tropical South West Atlantic. *Plos One*, v. 7, n. 4, p. e35171.
- Amado-Filho, G.M., Pereira-Filho, G.H., Bahia, R.G., Abrantes, D.P., Veras, P.C., Matheus, Z. 2012b. Occurrence and distribution of rhodolith beds on the Fernando de Noronha Archipelago of Brazil. *Aquatic Botany*, v. 101, p. 41-45.
- Atabey, N. 1998. Facies characteristics and geographic distribution of rhodoliths and maerls (red algae) in Southern Shelf of the sea of Marmara. *Mineral Research & Exploration Bulletin*, v. 120, p. 55-61
- Athanasiadis, A. & Ballantine, D.L. 2014. The genera *Melyvonnea* gen. nov. and *Mesophyllum* ss (Melobesioideae, Corallinales, Rhodophyta) particularly from the central Atlantic Ocean. *Nordic Journal of Botany*, v. 32, p. 385-436.
- Athanasiadis, A. & Neto, A. I. 2010. On the occurrence of *Mesophyllum expansum* (Philippi) Cabioch et Mendoza (Melobesioideae, Corallinales, Rhodophyta) in the Mediterranean Sea, the Canary Isles and the Azores. *Botanica Marina*, v. 53, p. 333-341.

- Athanasiadis, A. 1999. *Mesophyllum macedonis*, sp. nov. (Rhodophyta, Corallinales) a putative Tethyan relic in the North Aegean Sea. *European Journal of Phycology*, v. 34, p. 239-252.
- Athanasiadis, A., Lebednik P.A. & Adey W.H. 2004. The genus *Mesophyllum* (Melobesioideae, Corallinales, Rhodophyta) on the northern Pacific of North America. *Phycologia*, v. 43, p. 126-165.
- Bahia, R.G. 2010. Estrutura e composição de um banco de rodolitos ao longo de um gradiente de profundidade (5 – 25 metros) na região oceânica de Salvador, Bahia. Dissertação de mestrado - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro/Escola Nacional de Botânica Tropical. 73p.
- Bahia, R.G. 2014. Algas coralináceas formadoras de rodolitos da plataforma continental tropical e ilhas oceânicas do Brasil: levantamento florístico e taxonomia. Tese de doutorado - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro/Escola Nacional de Botânica Tropical. 221p.
- Bahia, R.G., Abrantes, D.P., Brasileiro P.S., Pereira-Filho G.H., Amado-Filho, G.M. 2010. Rhodolith bed structure along a depth gradient on the northern coast of Bahia State, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 58, p. 323-337.
- Bahia, R.G., Amado-Filho, G.M., Maneveldt, G.W., Adey, W.H., Johnson, G., Marins, B.V. & Longo, L.L. 2013. *Sporolithon tenue* sp. nov. (Sporolithales, Corallinophycidae, Rhodophyta): a new rhodolith-forming species from the tropical southwestern Atlantic. *Phycological Research*, v. 62, n. 1, p. 44-54.
- Bahia, R.G., Amado-Filho, G.M., Maneveldt, G.W., Adey, W.H., Johnson, G., Marins, B.V. & Longo, L.L. 2014. *Sporolithon tenue* sp. nov. (Sporolithales, Corallinophycidae, Rhodophyta): A new rhodolith-forming species from the tropical southwestern Atlantic. *Phycological Research*. v. 62, p. 44–54.
- Bahia, R.G., Riosmena-Rodriguez, R., Maneveldt, G.W., Amado-Filho, G.M., 2011. First report of *Sporolithon ptychoides* (Sporolithales, Corallinophycidae, Rhodophyta) for the Atlantic Ocean. *Phycological Research*, v. 59, p. 64-69.
- Bailey, J.C. & Chapman, R.L. 1996. Evolutionary relationships among Coralline red algae (Corallinaceae, Rhodophyta) inferred from 18S rRNA gene sequence analysis. In: Chaudhary, B.R., Agrawal, S.B. (Eds.), *Cytology, Genetics and Molecular Biology of Algae*. SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp. 363–376.
- Bailey, J.C. & Chapman, R.L. 1998. A phylogenetic study of the Corallinales (Rhodophyta) based on nuclear small-subunit rRNA gene sequences. *Journal of Phycology*, v. 34, p. 692–705.

- Bailey, J.C. 1999. Phylogenetic positions of *Lithophyllum incrustans* and *Titanoderma pustulatum* (Coralliaceae, Rhodophyta) based on 18S rRNA gene sequence analyses, with a revised classification of the Lithophylloideae. *Phycologia*, v. 38, p. 208–217.
- Bailey, J.C., Gabel, J.E. & Freshwater, D.W. 2004. Nuclear 18S rRNA gene sequence analyses indicate that the Mastophoroideae (Corallinaceae, Rhodophyta) is a polyphyletic taxon. *Phycologia*, v. 43, p. 3-12.
- Bassi, D., Nebelsick, J. H., Checconi, A., Hohenegger, J. & Iryu, Y. 2009. Present-day and fossil rhodolith pavements compared: their potential for analysing shallow-water carbonate deposits. *Sedimentary Geology*, v. 214, n. 1, p. 74-84.
- Basso, D. 1998. Deep rhodolith distribution in the Pontian Islands, Italy: a model for the paleoecology of temperate sea. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v. 137, p. 173-187.
- Basso, D., Rodondi, G. & Bressan, G. 2011. A re-description of *Lithothamnion crispatum* and the status of *Lithothamnion superpositum* (Rhodophyta, Corallinales). *Phycologia*, v. 50, n. 2, p. 144-155.
- Berlandi, R.M., Figueiredo, M.A.O. & Paiva, P.C. 2012. Rhodolith morphology and the diversity of polychaetes off the southeastern Brazilian coast. *Journal of Coastal Research*, v. 28, p. 280-287.
- Bhattacharya, D., Elwood, H.J., Goff, L.J., & Sogin, M.L. 1990. Phylogeny of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) based on sequence analysis of its small subunit ribosomal RNA coding region. *Journal of Phycology*, v. 26, p. 181–186.
- Bittner, L., Payri, C.E., Maneveldt, G.W., Couloux, A., Cruaud, C., Reviere, B. & Le Gall, L. 2011. Evolutionary history of the Corallinales (Corallinophycidae, Rhodophyta) inferred from nuclear, plastidial and mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 61, n. 3, p. 697-713.
- Bizzozero, G., 1885. *Flora Veneta Crottogamica*, vol. part 2. Seminario, Padova, 255 pp
- Bordehore, C., Ramos-Esplá, A.A. & Riosmena-Rodríguez, R., 2003. Comparative study of two maerl beds with different otter trawling history, southeast Iberian Peninsula. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, n. 13, p. S43–S54.
- Bosellini, A. & Ginsburg, R.N., 1971. Form and internal structure of recent algal nodules (rhodolites) from Bermuda: *The Journal of Geology*, v. 79, p. 669-682.
- Bosence, D. W. J. 1976. Ecological studies on two unattached coralline algae from western Ireland. *Palaeontology*, v. 19, n. 2, p. 365-395.

- Bosence, D.W.J. 1983b. Description and classification of rhodoliths (Rhodoids, Rhodolites). *In*: Peryt, T.M. ed., *Coated grains*. Berlin, Springer - Verlag Press, 217-224 pp.
- Bosence, D.W.J., 1983a. Coralline algal reef frameworks. *Journal of the Geological Society*, v. 140, p. 365-376.
- Brasileiro, P.S., Yoneshigue-Valentin, Y., Bahia, R.G., Reis, R.P. & Amado-Filho, G.M. 2009. Algas Marinhas Bentônicas da Região de Cabo Frio e Arredores: Síntese do Conhecimento. *Rodriguesia*, Rio de Janeiro, v. 60, n. 1, p. 39-66.
- Broom, J.E.S., Hart, D.R., Farr, T.J., Nelson, W.A., Neill, K.F., Harvey, A.S. & Woelkerling, W.M.J. 2008. Utility of psbA and nSSU for phylogenetic reconstruction in the Corallinales based on New Zealand taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 46, p. 958–973.
- Burdett H.L., Aloisio E., Calosi P., Findlay H.S., Widdicombe S., Hatton A.D. & Kamenos N.A. 2012. The effect of chronic and acute low pH on the intracellular DMSP production and epithelial cell morphology of red coralline algae. *Marine Biology Research*, v. 8, p. 756-763.
- Cabioch, J. & Giraud, G. 1986. Structural aspects of biomineralization in the coralline algae (calcified Rhodophyceae). *In*: Leadbeater, B. S. C. & Riding, R. eds., *Biomineralization in lower plants and animals*. Oxford, Clarendon Press, v. 30, p. 141-156.
- Campbell, S.J. & Woelkerling, W.J., 1990. Are *Titanoderma* and *Lithophyllum* (Corallinaceae, Rhodophyta) distinct genera? *Phycologia*. v. 29, p. 114-125.
- Chamberlain, Y.M. & Keats, D.W. 1995. The Melobesoid alga *Mesophyllum engelhartii* (Rhodophyta, Corallinaceae) in South Africa. *South African Journal of Botany*, v. 61, n. 3, p. 134-146.
- Chamberlain, Y.M. 1996. Lithophylloid Corallinaceae (Rhodophyta) of the genera *Lithophyllum* and *Titanoderma* from southern Africa. *Phycologia*, v. 35, p. 204-221.
- Cianciola, E.N., Popolizio, T.R., Schneider, C.W. & Lane, C.E. 2010. Using molecular-assisted alpha taxonomy to better understand red algal biodiversity in Bermuda. *Diversity*, v. 2, n. 6, p. 946-958.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, v. 9, n. 8, p.772.
- De Clerck, O., Leliaert, F., Verbruggen, H., Lane, C.E., De Paula, J.C., Payo, D.A. & Coppejans, E. 2006. A revised classification of the Dictyoteae (Dictyotales, Phaeophyceae) based on rbcL and 26s ribosomal DNA sequence analyses1. *Journal of Phycology*, v. 42, n. 6, p. 1271-1288.
- Destombe, C. & Douglas, S.E. 1991. Rubisco spacer sequence divergence in the rhodophyte alga *Gracilaria verrucosa* and closely related species. *Current Genetics*, v. 19, p. 395–398.

- Di Geronimo, R. & Giaccone, G. 1994. Le alghe calcaree nel Detritico Costiero di Lampedusa (Isola Pelagie). *Bolletino Accademica Gioenia Scienze Naturali*, v. 27, p. 5-25.
- Farias, J.N., 2009. Morfologia e reprodução de *Lithothamnion superpositum* e *Mesophyllum engelhartii* (Corallinales; Rhodophyta) – adições para a flora brasileira. Tese de Mestrado-Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de botânica.
- Farias, J.N., Riosmena-Rodriguez, R., Bouzon, Z., Oliveira, E.C. & Horta, P.A. 2010. *Lithothamnion supepositum* (Corallinales; Rhodophyta): First description for the Western Atlantic or rediscovery of a species? *Phycological Research*, v. 58, p. 210-216.
- Farr, T., Broom, J., Hart, D., Neill, K. & Nelson, W. 2009. Common coralline algae of northern New Zealand: an identification guide. *NIWA Information Series No. 70*.
- Figueiredo M.A.O. & Steneck R. S. 2002. Floristic and ecological studies of crustose coralline algae on Brazil's Abrolhos reefs. *Proceedings 9th International Coral Reef Symposium*, v. 1, p. 493-498.
- Figueiredo M.A.O. 1997. Colonization and growth of crustose coralline algae in Abrolhos, Brazil. *Proceedings 8th International Coral Reef Symposium*, v.1, p. 689-694.
- Figueiredo, M.A.O., Coutinho, R., Villas-Boas, A.B., Tâmega, F.T.S. & Mariath, R. 2012. Deep-water rhodolith productivity and growth in the southwestern Atlantic. *Journal of Applied Phycology*, v. 24, p. 487-493.
- Figueiredo, M.A.O., Norton, T.A. & Kain-Jones, J. N. 1997. Settlement and survival epiphytes on two intertidal crustose coralline alga. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 213, p. 247-260.
- Figueiredo, M.A.O., Santos-de Menezes, K., Costa-Paiva, E.M., Paiva, P.C. & Ventura, C.R.R. 2007. Experimental evaluation of rhodoliths as living substrata for infauna at the Abrolhos Bank, Brazil. *Ciencias marinas*, v. 33, n. 4, p. 427-440.
- Foslie, M. 1898. Systematical survey of the Lithothamnia. *Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Skrifter*, v. 1898, n. 2, p. 1-7.
- Foslie, M. 1900. New or critical calcareous algae. *Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Skrifter*, v. 1899, n. 5, p. 1-34.
- Foslie, M. 1909. Algologiske notiser VI. *Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Skrifter*, v. 1909, n. 2, p. 1-63.
- Foster, M., Riosmena-Rodríguez. R., Steller, D., Woelkerling, W.M.J. 1997. Living rhodolith beds in the Gulf of California and their significance for paleoenvironmental interpretation. *In: Johnson M, Ledesma-Vázquez J (eds.), Pliocene Carbonates and Related Facies Flanking the*

- Gulf of California, Baja California, Mexico. *Geological Society of America, Special Paper*, Boulder, pp. 127–139.
- Foster, M.S. 2001. Rhodoliths: between rocks and soft places. *Journal of Phycology*, v. 37, p. 659–667.
- Freshwater, D.W. & Bailey, J.C. 1998. A multigene phylogeny of the Gelidiales including nuclear largesubunit rRNA sequence data. *Journal of Applied Phycology*, v. 10, p. 229–236.
- Freshwater, D.W., Fredericq, S., Butler, B.S., Hommersand, M.H., & Chase, M.W. 1994. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v. 91, p. 7281–7285.
- Gagnon, P., Matheson, K. & Stapleton, M. 2012. Variation in rhodolith morphology and biogenic potential of newly discovered rhodolith beds in Newfoundland and Labrador (Canada). *Botanica Marina*, v. 55, p. 85–99.
- Galtier, N., Gouy, M. & Gautier, C. 1996. SEAVIEW and PHYLO_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Computer Applications in the Biosciences*, v. 12, p. 543–548.
- Geraldino, P.J.L., Yang, E.C., Kim, M.S. & Boo, S.M. 2009. Systematics of *Hypnea asiatica* sp. nov. (Hypneaceae, Rhodophyta) based on morphology and nrDNA SSU, plastid *rbcL*, and mitochondrial *cox1*. *Taxon*, v. 58, p. 606–16.
- Gherardi, D.F.M. 2004. Community structure and carbonate production of a temperate rhodolith bank from Arvoredo Island, southern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 52, n. 3–4, p. 207–224.
- Goldberg, N. 2006. Age estimates and description of rhodoliths from Esperance Bay, Western Australia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 86, n. 06, p. 1291–1296.
- Graham, D.J. & Midgley, N.G., 2000. Graphical representation of particle shape using triangular diagrams: an excel spreadsheet method. *Earth Surface Processes and Landforms*, v. 25, p. 1473–1477.
- Gray, J.E. 1864. *Handbook of British water-Weeds or algae*. pp. i-iv, 1-123. London: R. Hardwicke.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A.C., Hebert, P.D.N. & Hickey, D.A. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, v.23, n.4.
- Hall, T.A. 1999. Bioedit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/nt. *Nucleic Acids Symposium Series*, v. 41, p. 95–98.

- Hall-Spencer, J., White, N., Gillespie, E., Gillham, K. & Foggo, A. 2006. Impact of fish farms on maerl beds in strongly tidal areas. *Marine Ecology Progress Series*, v. 326, p. 1-9.
- Hall-Spencer, J.M. 1998. Conservation issues relating to maerl beds as habitats for molluscs. *Journal of Conchology Special Publication*, v. 2, p. 271-286.
- Harrington L., Fabricius K., Eaglesham G.C. & Negri A. 2005. Synergistic effects of diuron and sedimentation on photosynthesis and survival of crustose coralline algae. *Marine pollution bulletin*, v. 51, p. 415-427.
- Harvey, A.S. & Bird, F.L. 2008. Community structure of a rhodolith bed from cold temperate waters (southern Australia). *Australian Journal of Botany*, v. 56, p. 437-450.
- Harvey, A.S., Broadwater, S., Woelkerling, W.J. & Mitrovski, Y.P., 2003a. *Choreonema* (Corallinales, Rhodophyta): 18S rDNA phylogeny and resurrection of the Hapalidiaceae for the subfamilies Choreonematoidea, Austrolithoideae and Melobesioidea. *Journal of Phycology*, v. 39, p. 988-998.
- Harvey, A.S., Woelkerling, W.J. & Millar, A.J.K. 2003b. An account of Hapalidiaceae (Corallinales, Rhodophyta) in South-eastern Australia. *Australian Systematic Botany*, v. 16, p. 647-698.
- Harvey, A.S., Woelkerling, W.J. & Millar, A.J.K. 2009. The genus *Lithophyllum* (Lithophylloideae, Corallinales, Rhodophyta) in south-eastern Australia, with the description of *L. riosmenae*, sp. nov. *Australian Systematic Botany*, v. 22, n. 4, p. 296-317.
- Harvey, A.S., Woelkerling, W.M.J. & Millar, A.J.K. 2002. The Sporolithaceae (Corallinales, Rhodophyta) in south-eastern Australia: taxonomy and 18S rRNA phylogeny. *Phycologia*, v. 41, p. 207-227.
- Hebert, P.D., Ratnasingham, S., & de Waard, J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 270, n. Suppl 1, p. S96-S99.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & De Waard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings the Royal Society of London, Series B*, v. 270, p. 313-321.
- Henriques, M.C.M.O. 2010. *Taxonomia de algas calcárias incrustantes (Rhodophyta, Corallinales) em bancos de profundidade da região central da Zona Econômica Exclusiva Brasileira e suas considerações biogeográficas*. Dissertação de mestrado - Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Botânica. 101p.

- Henriques, M.C.M.O., Riosmena-Rodriguez, R., Coutinho, L.M. & Figueiredo, M.A.O. 2014. Lithophylloideae and Mastophoroideae (Corallinales, Rhodophyta) from the Brazilian continental shelf. *Phytotaxa*, v. 190, n. 1, p. 112–129.
- Henriques, M.C.M.O., Villas-Bôas, A., Riosmena-Rodriguez, R. & Figueiredo, M.A.O. 2011. New records of rhodolith-forming species (Corallinales, Rhodophyta) from deep water in Espírito Santo State, Brazil. *Helgoland Marine Research*. v. 66, n. 2, p. 219-231.
- Heydrich, F. 1901. Die Lithothamnien des Museum d'Histoire Naturelle in Paris. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, v. 28, p. 529-545, pl XI.
- Hoef-Emden, K., Shrestha, R.P., Lapidot, M., Weinstein, Y., Melkonian, M., & Arad, S. 2005. Actin phylogeny and intron distribution in bangiophyte red algae (Rhodoplantae). *Journal of Molecular Evolution*, v. 61, p. 360–371.
- Hori, H., Lim, B.-L., & Osawa, S. 1985. Evolution of green plants as deduced from 5S rRNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v. 82, p. 820–823.
- Horta P.A. 2002. Bases para a identificação das coralináceas não articuladas do litoral brasileiro – uma síntese do conhecimento. *Biotemas*, v. 15, n. 1, p. 7-44.
- Horta, P.A. 2000. *Macroalgas do infralitoral do sul e sudeste do Brasil: taxonomia e biogeografia*. Tese de Doutorado - Instituto de biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. 301p.
- Horta, P.A., Amancio, C.E., Coimbra, C.S. & Oliveira, E.C. 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas brasileiras. *Hoehnea*, v. 28, p. 243-265.
- Horta, P.A., Scherner, F., Bouzoun, Z.L., Riosmena-Rodriguez, R. & Oliveira, E.C. 2011. Morphology and reproduction of *Mesophyllum erubescens* (Foslie) Me. Lenoime (Corallinales, Rhodophyta) of Southern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 34, p. 125-134.
- Hughey, J.R., Braga, J.C., Aguirre, J., Woelkerling, W.J. & Webster, J.M. 2008. Analysis of ancient DNA from fossil corallines (Corallinales, Rhodophyta). *Journal of Phycology*, v. 44, p. 374–383.
- Huisman, J.M., Harper, J.T. & Saunders, G.W. 2004. Phylogenetic study of the Nemaliales (Rhodophyta) based on large-subunit ribosomal DNA sequences supports segregation of the Scinaiceae fam. nov. and resurrection of *Dichotomaria* Lamarck. *Phycological Research*, v. 52, p. 224–234.

- Irvine, L.M., Chamberlain, Y.M. 1994. *Seaweeds of the British Isles*. vol. I Rhodophyta, Part 2B Corallinales, Hildenbrandiales. St. Edmundsbury Press. The Natural History Museum London, 276p.
- Kamenos, N.A., Moore, P.G. & Hall-Spencer, J.M. 2004. Attachment of the juvenile queen scallop (*Aequipecten opercularis* L.) to maerl in mesocosm conditions; juvenile habitat selection. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 306, p. 139-155.
- Kato, A., Baba, M. & Suda, S. 2011. Revision of the Mastophoroideae (Corallinales, Rhodophyta) and polyphyly in nongeniculate species widely distributed on pacific coral reefs. *Journal Phycology*, v. 47, p. 1-11.
- Kato, A., Baba, M. & Suda, S. 2013. Taxonomic circumscription of heterogeneous species *Neogoniolithon brassica-florida* (Corallinales, Rhodophyta) in Japan. *Phycological Research*, v. 61, p. 15–26.
- Keats D.W., Maneveldt G., Chamberlain Y.M. 2000. *Lithothamnion superpositum* Foslie: a common crustose red alga (Corallinaceae) in South Africa. *Cryptogamie Algologie*, v. 21, p. 381-400.
- Keats, D.W. & Chamberlain, Y.M. 1994. Two melobesioid coralline algae (Rhodophyta, Corallinales), *Mesophyllum erubescens* (Foslie) Lemoine and *Mesophyllum funafutiense* (Foslie) Verheij from Sodwana Bay, South Africa. *South African Journal of Botany*, v. 60, p. 175-190.
- Keats, D.W. & Maneveldt, G. 1997. First report of the melobesioid alga (Corallinales, Rhodophyta), *Mesophyllum incisum* (Foslie) Adey in South Africa. *South Africa Journal Botany*, v. 63, p. 201-209.
- Keegan, B.F. 1974. The macrofauna of maerl substrates on the west coast of Ireland. *Cahiers de Biologie Marine*, v. 15, p. 513-530.
- Kempf, M. 1970. Notes on the benthic bionomy of the N-NE Brazilian shelf. *Marine Biology*, v. 5, p. 213-224.
- Khader, S. 2012. *Distribuição das algas calcárias não geniculadas em ecossistemas marinhos na região de ressurgência de Cabo Frio*. Dissertação de mestrado - Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Botânica. 85p.
- Kim, M.S., Yang, E.C., & Boo, S.M. 2006. Taxonomy and phylogeny of flattened species of *Gracilaria* (Gracilariceae, Rhodophyta) from Korea based on morphology and protein-coding plastid rbcL and psbA sequences. *Phycologia*, v. 45, n. 5, p. 520-528.
- Konar, B., Riosmena-Rodriguez, R., Iken, K., 2006. Rhodolith bed: a newly discovered habitat in the Northern Pacific Ocean. *Botanica Marina*, v. 49, p. 355-359.

- Lamouroux, J.V.F. 1812. Sur la classification des Polypiers coralligènes non entièrement pierreux. *Nouveau Bulletin des Sciences par la Société Philomathique de Paris*, v. 3, p. 181-188.
- Lane, C.E., Mayes, C., Druehl, L.D. & Saunders, G.W., 2006. A multi-gene molecular investigation of the kelp (Laminariales, Phaeophyceae) supports substantial taxonomic re-organisation. *Journal of Phycology*, v. 42, p. 493–512.
- Lavrado, H.P. 2006. Caracterização do ambiente e da comunidade bentônica. In: Lavrado, H.P. & Ignácio, B.L. (eds.). *Biodiversidade bentônica da região central da zona econômica exclusiva brasileira*. Rio de Janeiro: Museu Nacional, (Série Livros), n. 18, p. 19-64.
- Le Gall, L & Saunders, G.W. 2007. A nuclear phylogeny of the Florideophyceae (Rhodophyta) inferred from combined EF2, small subunit and large subunit ribosomal DNA: Establishing the new red algal subclass Corallinophycidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 43, p. 1118–1130.
- Le Gall, L., Payri, C. E., Bittner, L. & Saunders, G.W. 2010. Multigene phylogenetic analyses support recognition of the Sporolithales ord. nov. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 54, n. 1, p. 302-305.
- Lee, S.R., Oak, J.H., Suh, Y., & Lee, I.K. 2001. Phylogenetic utility of rbcS sequences: an example from *Antithamnion* and related genera (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology*, v. 37, p. 1083–1090.
- Lemoine, M. 1928. Un nouveau genre de Mélobésiées: Mesophyllum. *Bulletin de la Société Botanique de France*, v. 75, p. 251-254.
- Littler, M.M., Littler, D.S. & Dennis Hanisak, M. 1991. Deep-water rhodolith distribution, productivity, and growth history at sites of formation and subsequent degradation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 150, n. 2, p. 163-182.
- Maggs, C. A., Verbruggen, H., & De Clerck, O. 2007. Chapter 6 - Molecular systematics of red algae: building future structures on firm foundations. *Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics*, 103p.
- Mariath, R., Riosmena-Rodríguez R. & Figueiredo, M.A.O. 2012. *Lithothamnion steneckii* sp. nov. and *Pneophyllum conicum*: new coralline red algae (Corallinales, Rhodophyta) for coral reefs of Brazil. *Algae*, v. 27 n. 4, p. 249-258.
- Marrack, E.C., 1999. The relationship between water motion and living rhodolith beds in the southwestern Gulf of California, Mexico. *Palaios*, v. 14, p. 159–171.
- Medeiros, A.D.S. 2013. *Diversidade de macroalgas da Baía do Almirantado, ilha Rei George, Península Antártica, baseada em 'DNA barcoding' e outros marcadores moleculares* - Tese de doutorado, Universidade de São Paulo - 113p.

- 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. *Systematic Biology*, v. 57, p. 809-822.
- Milstein D., Medeiros, A.S., Oliveira, E.C. & Oliveira, M.C.. 2012. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, v. 24, n. 4, p. 837-845.
- Ministério do Meio Ambiente, 2002. Avaliação e ações prioritárias para a conservação de biodiversidade das zonas costeiras e marinhas. Fundação BIO-RIO, Secretaria do Estado de Ciência, tecnologia e Meio Ambiente do Pará – SECTRAM, Instituto de Desenvolvimento Econômico e Meio Ambiente do Rio Grande do Norte – IDEMA, Sociedade Nordestina de Ecologia-SNE [et al]. Brasília: MMA/SBF, 72p.
- Minnery, G.A., 1990. Crustose coralline algae from the Flower Banks, northwestern Gulf of México: controls on distribution and growth morphology. *Journal of Sedimentary and Petrology*, v. 60, p. 993-1007.
- Moura, C.W.N., Kraus, J.E. & Cordeiro-Marino, M. 1997. Metodologia para obtenção de cortes histológicos com historesina e coloração com azul de toluidina O para algas coralináceas (Rhodophyta, Corallinales). *Hoehnea*, v. 24, n. 2, p. 17-27.
- Nägeli, C. 1858. Die Stärkekörner. In: Nägeli, C. & Cramer, C. (Eds.) *Pflanzenphysiologische Untersuchungen*. Vol. 2 Zürich, pp. i–x, 1–623.
- Nunes, J.M.C. 2005. *Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil*. Tese de doutorado – Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências.
- Nunes, J.M.C., Guimarães, S.M.P.B., Donnangelo, A., Farias, J. & Horta, P.A. 2008. Aspectos taxonômicos de três espécies de Coralináceas não articuladas do litoral do estado da Bahia, Brasil. *Rodriguésia*, v. 59, n. 1, p. 075-086.
- Oigman-Pszczol, S.S. & Creed, J.C. 2007. Quantification and classification of marine litter on beaches along Armação dos Búzios, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Coastal Research*, v. 23, p. 421–428.
- Olson, K.N., Melton, R.S., Yaudes, K.M., Norwood, K.G., & Freshwater, D.W. 2005. Characteristics and utility of plastid-encoded 16S rRNA gene sequence data in phylogenetic studies of red algae. *Journal of the North Carolina Academy of Science*, v. 120, p. 143–151.
- Peña, V., Adey, W.H., Riosmena-Rodríguez, R., Jung, M.Y., Afonso-Carrillo, J., Choi, H.G. & Bárbara, I. 2011. *Mesophyllum sphaericum* sp. nov. (Corallinales, Rhodophyta): a new maerl-forming species from the Northeast Atlantic. *Journal of Phycology*, v. 47, p. 911–927.

- Peña, V., Bárbara, I. 2008. Biological importance of an Atlantic European maerl bed off Benencia Island (northwest Iberian Peninsula). *Botanica Marina*, v. 51, p. 493–505.
- Peña, V., Hernández-Kantún, J.J., Grall, J., Pardo, C., López, L., Bárbara, I., Le Gall, L., & Barreiro, R. 2014. Detection of gametophytes in the maerl-forming species *Phymatolithon calcareum* (Melobesioideae, Corallinales) assessed by DNA barcoding. *Cryptogamie, Algologie*, v. 35, n. 1, p. 15-25.
- Philippi, R.A. 1837. Beweis, dass die Nulliporen Pflanzen sind. *Archiv für Naturgeschichte*, v. 3, p. 387-393, figs 2-6, pl. IX.
- Prager, E.J. & Ginsburg, R.N. 1989. Carbonate nodule growth on Florida's outer shelf and its implications for fossil interpretations. *Palaios*, v. 4, p. 310–7.
- Provan, J., Murphy, S., & Maggs, C.A. 2004. Universal plastid primers for Chlorophyta and Rhodophyta. *European Journal of Phycology*, v. 39, p. 43–50.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, v. 7, p. 355–364.
- Riosmena-Rodríguez, R. & Vásquez-Elizondo, R.M. 2012. Range extension of *Mesophyllum engelhartii* (Foslie) W.H. Adey (Corallinales; Rhodophyta) to the Gulf of California: Morphology, anatomy and reproduction. *Botanica Marina* v. 55, n. 2, p. 143-148.
- Riosmena-Rodríguez, R., Steller, D. L., Hinojosa-Arango, G. & Foster, M. S. 2010. Reefs that rock and roll: biology and conservation of rhodolith beds in the Gulf of California. *Marine Biodiversity and Conservation in the Gulf of California*. University of Arizona Press and Sonoran Desert Museum, Tuscon, AZ.
- Riosmena-Rodríguez, R., Steller, D.L., Hinojosa-Arango, G. & Foster, M.S. 2007. Biology and Conservation of Rhodolith beds. In, Bursca, R.C. (ed.) *Biodiversity and Conservation of the Sea of Cortez*. University of Arizona and Arizona-Sonora Desert Museum Press.
- Riosmena-Rodríguez, R., Woelkerling, W.M. J. & Foster, M.S. 1999. Taxonomic reassessment of rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales, Rhodophyta) in the Gulf of California, Mexico. *Phycologia*, v. 38, n. 5 p. 401-417.
- Riul, P., Targino, C.H., Farias, J.D.N., Visscher, P.T. & Horta, P.A. 2008. Decrease in Lithothamnion sp.(Rhodophyta) primary production due to the deposition of a thin sediment layer. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 88, n. 01, p. 17-19.
- Robba, L., Russell, S.J., Barker, G. L. & Brodie, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial cox1 marker for use in Dna Barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany*, v. 93, n. 8, p.1101–1108.

- Robinson, N.M., Hansen, G.I., Fernández-García, C. & Riosmena-Rodríguez, R. 2013. A taxonomic and distributional study of the rhodolith-forming species *Lithothamnion muelleri* (Corallinales, Rhodophyta) in the Eastern Pacific Ocean. *Algae*, v. 28, n. 1, p. 63-71.
- Robinson, N.M.R. 2013. *Sistemática de las especies de algas coralinas (Corallinophycidae, Rhodophyta) formadoras de mantos de rodolitos em El Pacífico Tropical Oriental*. Tesis de Maestría. Universidade Autónoma de Baja California Sur, Baja California Sur, Mexico.
- Rocha, R. M., Metri, R. & Omuro, J. Y. 2006. Spatial Distribution and Abundance of Ascidians in a Bank of Coralline Algae at Porto Norte, Arvoredo Island, Santa Catarina. *Journal of Coastal Research*, Special Issue, v. 39, p. 1676 - 1679.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A. & Huelsenbeck, J.P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, v. 61, n. 3, p. 539-542.
- Rosas-Alquicira, E., Riosmena-Rodríguez, R., Couto, R.P. & Neto, A.I. 2009. New additions to the Azorean algal flora, with ecological observations on rhodolith formations. *Cahiers de Biologie Marine*, v. 50, p. 143-151.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, v. 4, p. 406-425.
- Saunders, G.W. & Moore, T.E. 2013. Refinements for the amplification and sequencing of red algal DNA barcode and RedToL phylogenetic markers: a summary of current primers, profiles and strategies. *Algae*, v. 28, n. 1, p. 31-43.
- Saunders, G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 360, n. 1462, p. 1879–1888.
- Schaeffer, T.N., Smith, G.J., Foster, M.S. & Detomaso, A. 2002. Genetic differences between two growth-forms of *Lithophyllum margaritae* (Rhodophyta) in Baja California Sur, Mexico. *Journal of Phycology*, v. 38, p.1090–1098.
- Sciberras, M., Rizzo, M., Mifsud, J.J. & Camilleri, K. 2009. Habitat structure and biological characteristics of a maerl bed off the northeastern coast of the Maltese Islands (central Mediterranean). *Marine Biodiversity*, v. 39, p. 251-264.
- Sciberras M., Rizzo M., Mifsud J.J. & Camilleri, K. 2009. Habitat structure and biological characteristics of a maerl bed off the northeastern coast of the Maltese Islands (central Mediterranean). *Marine Biodiversity*, v. 39, n. 4, p. 251-264.
- Scoffin, T. P., Stoddart, D. R., Tudhope, A. W. & Woodroffe, C. 1985. Rhodoliths and coralloliths of Muri Lagoon, Rarotonga, Cook Islands. *Coral Reefs*, v. 4, p. 71–80.

- Seo, K. S., Cho, T. O., Park, J. S., Yang, E. C., Yoon, H. S., & Boo, S. M. 2003. Morphology, basiphyte range, and plastid DNA phylogeny of *Campylaephora borealis* stat. nov. (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Taxon*, v. 52, n. 1, p. 9-19.
- Setchell, W.A. 1943. *Mastophora* and the Mastophoreae: genus and subfamily of Corallinaceae. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 29, p. 127-135.
- Silva, P.C. & Johansen, H.W. 1986. A reappraisal of the order Corallinales (Rhodophyceae). *British Phycological Journal*, v. 21, p. 245-254.
- Sissini, M.N. 2013. *Hapalidiaceae (Corallinophycidae, Rhodophyta) no litoral brasileiro-diversidade e biogeografia*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina. 147p.
- Smith, A.M, Sutherland, J.E., Kregting L., Farr, T.J. & Winter, D.J. 2012. Phylomineralogy of the Coralline red algae: correlation of skeletal mineralogy with molecular phylogeny. *Phytochemistry*, v. 81, p. 97–108.
- Sneed, E. D. & Folk, R. L. 1958. Pebbles in the lower Colorado River, Texas a study in particle morphogenesis. *The Journal of Geology*, p. 114-150.
- Steane, D.A., McClure, B.A., Clarke, A.E., & Kraft, G.T. 1991. Amplification of the polymorphic 5.8S ribosomal RNA gene from selected Australian gigartinean species (Rhodophyta) by polymerase chain-reaction. *Journal of Phycology*, v. 27, p. 758–762.
- Steller, D. L., Foster, M. S. & Riosmena-Rodríguez, R. 2009. Living rhodolith bed ecosystems in the Gulf of California, In: Johnson, J. M., Ledesma-Vázquez, J. (Eds.). Atlas of Coastal Ecosystems in the Gulf of California: Past and Present. *University of Arizona Press*, p. 72–82.
- Steller, D.L., Carcères-Martínez, C. 2009. Coralline algal rhodoliths enhance larval settlement and early growth of the Pacific calico scallop *Argopecten ventricosus*. *Marine Ecology Progress Series*, v. 306, p. 49-60.
- Steller, D.L. & Foster, M.S. 1995. Environmental factors influencing distribution and morphology of rhodoliths in Bahia Concepcion, B.C.S., Mexico. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 194, p. 201-212.
- Steller, D.L., Riosmena-Rodriguez R., Foster, M.S. & Roberts, C.A. 2003. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California: the importance of rhodolith structure and consequences of disturbance. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v. 13, p. S5-S20.
- Steneck, R.S. 1986. The ecology of coralline algal crusts: convergent patterns and adaptative strategies. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, v. 17, p. 273-303.
- Stoeckle, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the bar code of life. *BioScience*, v. 53, p. 796-797.

- Tâmega, F.T.S. & Figueiredo, M.A.O. 2005. Distribuição das algas calcárias incrustantes (Corallinales, Rhodophyta) em diferentes habitats na Praia do Forno, Armação dos Búzios, Rio de Janeiro. *Rodriguésia*, v. 56, p. 123-132.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, v. 28, p. 2731-2739.
- Testa, V. & Bosence, D. W. 1999. Physical and biological controls on the formation of carbonate and siliciclastic bedforms on the north-east Brazilian shelf. *Sedimentology*, v. 46, n. 2, p. 279-301.
- Tronholm, A., Steen, F., Tyberghein, L., Leliaert, F., Verbruggen, H., Antonia Ribera Siguan, M. & De Clerck, O. 2010. Species Delimitation, Taxonomy, and Biogeography of *Dictyota* in Europe (Dictyotales, Phaeophyceae). *Journal of Phycology*, v. 46, n. 6, p. 1301-1321.
- Unger, F. 1858. Beiträge zur näheren Kenntniss des Leithakalkes, namentlich der vegetabilischen Einschlüsse und der Bildungsgeschichte desselben. *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften [Wein], Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse*, v. 14, p. 13-35.
- Vidal, R., Meneses, I. & Smith, M. 2002. Enhanced DNA extraction and PCR amplification of SSU ribosomal genes from crustose coralline algae. *Journal of Applied Phycology*, v. 14, p. 223-227.
- Vidal, R., Meneses, I. & Smith, M. 2003. Molecular genetic identification of crustose representatives of the order Corallinales (Rhodophyta) in Chile. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 28, p. 404-419.
- Vidal, R., Meneses, I. & Smith, M. 2008. Phylogeography of the genus *Spongites* (Corallinales, Rhodophyta) from Chile. *Journal of Phycology*, v. 44, p. 173-172.
- Vieira-Pinto, T.V. 2011. Aspectos morfoanatômicos, reprodutivos e moleculares do gênero *Lithophyllum* (Lithophylloideae, Corallinales, Rhodophyta) do sul do Brasil. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Botânica, 88p.
- Villas-Bôas, A.B. 2008. *Comunidades de organismos incrustantes e identificação de algas calcárias em bancos de rodolitos no estado do Espírito Santo*. Tese de Doutorado - Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Botânica. 123p.
- Villas-Bôas, A.B., Figueiredo, M.A.O. & Villaça, R.C. 2005. Colonization and growth of crustose coralline algae (Corallinales, Rhodophyta) on the Rocas Atoll. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 53, n. 3-4, p. 147-156.
- Villas-Bôas, A.B., Riosmena-Rodriguez, R., Amado Filho, G.M., Maneveldt, G. & Figueiredo, M.A.O. 2009. Rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales; Rhodophyta) from

- Espírito Santo State, Brazil, including the description of *L. depressum* sp. nov. *Phycologia*, v. 48, p. 237-248.
- Villas-Bôas, A.B., Riosmena-Rodriguez, R., Tâmega, F.T.S., Amado Filho, G.M., Maneveldt, G. & Figueiredo, M.A.O. Rhodolith-forming species of the subfamilies Neogonolithoideae, and Hydrolithoideae (Rhodophyta, Corallinales) from Espírito Santo State, Brazil. *Phytotaxa* (no prelo).
- Villas-Bôas, A.B., Tâmega, F.T.S., Andrade, M., Coutinho, R. & Figueiredo, M.A.O. 2014. Experimental Effects of Sediment Burial and Light Attenuation on Two Coralline Algae of a Deep Water Rhodolith Bed in Rio de Janeiro, Brazil. *Cryptogamie, Algologie*, v. 35, n. 1, p. 67-76.
- Wilks, K.M. & Woelkerling, W.J. 1994. An account of southern Australian species of *Phymatolithon* (Corallinaceae, Rhodophyta) with comments on *Leptophytum*. *Australian Systematic Botany*, v. 7, p. 183-223.
- Wilks, K.M. & Woelkerling, W.J. 1995. An account of southern Australian species of *Lithothamnion* (Corallinaceae, Rhodophyta). *Australian Systematic Botany*, n. 8, p. 549–583.
- Wilson, S., Blake, C., Berges, J.A. & Maggs, C.A. 2004. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): implications for European marine conservation. *Biological Conservation*, v. 120, n. 2, p. 279-289.
- Woelkerling W.J. 1993. Type collections of Corallinales (Rhodophyta) in the Foslie Herbarium (TRH). *Gunneria*, v. 67, p. 1-289.
- Woelkerling W.J., Gustavsen G., Myklebost H.E., Tommy P. & Sasted S.M. 2005. The Coraralline Red Algae Herbarium of Mikael Foslie: revised catalogue with analyses. *Gunneria*, v. 77, p. 1-625.
- Woelkerling, W. J. 1996c. Subfamily Mastophoroideae. In: H.B.S.W. Womersley (ed.), The marine Benthic Flora of Southern Australia. Part IIIB, Gracilariales, Rhodymeniales, Corallinales and Bonnemaisoniales. *Australian Biological Resources Study, Canberra*, p. 237-283.
- Woelkerling, W.J. & Campbell, S.J. 1992. An account of southern Australian species of *Lithophyllum* (Corallinaceae, Rhodophyta). *Bulletin of the British Museum. Natural History. Botany*, v. 22, n. 1, p. 1-107.
- Woelkerling, W.J. & Harvey, A. 1992. *Mesophyllum incisum* (Corallinaceae, Rhodophyta) in southern Australia: implications for generic and specific delimitation in the Melobesioideae. *British Phycological Journal*, v. 27, n. 4, p. 381-399.
- Woelkerling, W.J. & Harvey, A. 1993. An account of southern Australian species of *Mesophyllum* (Corallinaceae, Rhodophyta). *Australian systematic botany*, v. 6, n. 6, p. 571-637.

- Woelkerling, W.J. 1988. *The coralline red algae: an analysis of the genera and sub-families of nongeniculate Corallinaceae*. British Museum Natural History and Oxford University Press, London.
- Woelkerling, W.J. 1996a. Subfamily Lithophylloideae. *In*: H.B.S.W. Womersley (ed.), *The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part IIIB, Gracilariales, Rhodymeniales, Corallinales and Bonnemaisoniales. Australian Biological Resources Study, Canberra*, p. 214-237.
- Woelkerling, W.J. 1996b. Subfamily Melobesioideae. *In*: H.B.S.W. Womersley (ed.), *The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part IIIB, Gracilariales, Rhodymeniales, Corallinales and Bonnemaisoniales. Australian Biological Resources Study, Canberra*, p. 164-210.
- Woelkerling, W.J., Irvine, L.M. & Harvey, A.S. 1993. Growth forms in non-geniculate coralline red algae (Corallinales, Rhodophyta). *Australian Systematic Botany*, v. 6, p. 277–293.
- Yang, E.C. & Boo, S.M. 2004. Evidence for two independent lineages of *Griffithsia* (Ceramiaceae, Rhodophyta) based on plastid protein-coding *psaA*, *psbA*, and *rbcL* gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 31, n. 2, p. 680-688.
- Yang, E.C., Kim, M.S., Geraldino, P.J.L., Sahoo, D., Shin, J.A. & Boo, S.M. 2008. Mitochondrial *cox1* and plastid *rbcL* genes of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, v. 20 p. 161-168.
- Yoneshigue, Y. 1985. *Taxonomie et ecologie des algues marines dans la région de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brésil)*. 466 f. Thèse (Docteur d'Etat – Sciences) – Faculté de Sciences de Luminy, Univ. d'Aix – Marseille II.
- Yoneshigue-Valentin, Y. & Valentin, J.L. 1992. Macroalgae of the Cabo Frio upwelling Region, Brazil: Ordination of Communities. *In*: *Coastal Plant Communities of Latin America*. Ulrich Seeliger Ed. San Diego, California. 392p.
- Yoon, H.S., Hackett, J.D., Ciniglia, C., Pinto, G. & Bhattacharya, D. 2004. A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution*, v. 21, p. 809–818.
- Yoon, H.S., Hackett, J.D., Pinto, G. & Bhattacharya, D. 2002. The single, ancient origin of chromist plastids. *Journal of Phycology*, v. 38, n. s1, p. 40-40.
- Yoon, H.S., Müller, K.M., Sheath, R.G., Ott, F.D. & Bhattacharya, D. 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, v. 42, n. 2, p. 482-492.
- Zuccarello, G.C., Burger, G., West, J.A., & King, R.J. 1999. A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships. *Molecular Ecology*, v. 8, p. 1443–1447.

ANEXOS

Anexo 1. Lista de espécies de *cox1* retiradas do Genbank utilizadas no estudo molecular: espécie, número de acesso no Genbank, referência e localidade.

Espécie	Acesso GenBank	Referência	Localidade
<i>Lithophyllum kotschyianum</i>	HQ423072	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-
<i>Lithophyllum insipidum</i>	HQ423068	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-
<i>Lithophyllum insipidum</i>	HQ423075	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-
<i>Lithophyllum</i> sp.	KJ418418	Richards 2014	EUA
<i>Lithophyllum</i> sp.	KJ418419	Richards 2014	EUA
<i>Lithophyllum</i> sp.	KC861446	Pardo <i>et al.</i> 2013	Irlanda
<i>Lithophyllum</i> sp.	KC861444	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Titanoderma</i> sp.	KJ418416	Richards 2014	EUA
<i>Mesophyllum erubescens</i>	HQ422717	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-
<i>Mesophyllum erubescens</i>	HQ422718	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	KC861525	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	KC861526	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	KC861527	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC861523	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC861518	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC861520	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Mesophyllum lichenoides</i>	KJ960853	Robuchon <i>et al.</i> 2014	França
<i>Lithothamnion glaciale</i>	KC861507	Pardo <i>et al.</i> 2013	Noruega
<i>Lithothamnion glaciale</i>	HM918812	Le Gall <i>et al.</i> 2010	Canadá
<i>Lithothamnion</i> sp.	KC861511	Pardo <i>et al.</i> 2013	Irlanda do Norte
<i>Lithothamnion</i> sp.	KC861516	Pardo <i>et al.</i> 2013	Islândia
<i>Lithothamnion corallioides</i>	KC861500	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Lithothamnion corallioides</i>	KC861487	Pardo <i>et al.</i> 2013	País de Gales
<i>Lithothamnion corallioides</i>	KC861450	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Phymatolithon purpureum</i>	KC861661	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon purpureum</i>	KC861662	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Phymatolithon calcareum</i>	KC861546	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Phymatolithon calcareum</i>	KC861545	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Phymatolithon calcareum</i>	KC861547	Pardo <i>et al.</i> 2013	Inglaterra
<i>Phymatolithon</i> sp.	KC861667	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon</i> sp.	KC861669	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon</i> sp.	KC861663	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Sporolithon ptychoides</i>	HQ422711	Sherwood <i>et al.</i> 2010	-

Anexo 2. Lista de espécies de *psbA* retiradas do Genbank utilizadas no estudo molecular: espécie, referência, número de acesso no Genbank e localidade.

Espécie	Acesso GenBank	Autor	Local
<i>Lithophyllum stictaeforme</i>	DQ167970	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum carpophylli</i>	DQ167984	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum</i> sp.	DQ167958	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum pustulatum</i>	DQ167872	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum incrustans</i>	JQ896236	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Lithophyllum incrustans</i>	JQ896256	Hernandez-Kantun 2012	França
<i>Lithophyllum margaritae</i>	JQ896235	Hernandez-Kantun 2012	México
<i>Lithophyllum margaritae</i>	JQ896253	Hernandez-Kantun 2012	México
<i>Lithophyllum dentatum</i>	JQ896255	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Lithophyllum dentatum</i>	JQ896237	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Lithophyllum byssoides</i>	JQ896252	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Lithophyllum byssoides</i>	JQ896251	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Lithophyllum impressum</i>	JQ917416	Maneveldt <i>et al.</i> 2012	-
<i>Lithophyllum kotschyanum</i>	AB576031	Kato & Suda 2010	Japão
<i>Lithophyllum kotschyanum</i>	AB576030	Kato & Suda 2010	Japão
<i>Lithophyllum kotschyanum</i>	AB576029	Kato & Suda 2010	Japão
<i>Lithophyllum stictaeforme</i>	FJ361442	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum stictaeforme</i>	FJ361581	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum stictaeforme</i>	FJ361446	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum johansenii</i>	FJ361408	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum johansenii</i>	FJ361549	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum pustulatum</i>	FJ361749	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum pustulatum</i>	FJ361746	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum</i> sp.	FJ361730	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum riosmenae</i>	FJ361615	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum carpophylli</i>	FJ361554	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum carpophylli</i>	FJ361555	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum corallinae</i>	FJ361409	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum corallinae</i>	FJ361544	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithophyllum johansenii</i>	DQ167963	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Titanoderma</i> sp.	KJ418413	Richards 2014	EUA
<i>Titanoderma</i> sp.	KJ418412	Richards 2014	EUA
<i>Mesophyllum engelhartii</i>	FJ361517	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Mesophyllum engelhartii</i>	JQ896243	Hernandez-Kantun 2012	México
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC819269	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC819252	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Mesophyllum</i> sp.	KC819249	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum macroblastum</i>	DQ167993	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Mesophyllum macroblastum</i>	DQ167918	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Mesophyllum macroblastum</i>	FJ361453	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Mesophyllum macroblastum</i>	FJ361550	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Mesophyllum macroblastum</i>	FJ361519	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia

Anexo 2. Continuação.

Espécie	Acesso GenBank	Autor	Local
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	KC819268	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	KC819262	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Mesophyllum sphaericum</i>	JQ896245	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Mesophyllum erubescens</i>	JQ896246	Hernandez-Kantun 2012	Espanha
<i>Mesophyllum erubescens</i>	AB576043	Kato & Suda 2010	Japão
<i>Mesophyllum erubescens</i>	AB576044	Kato & Suda 2010	Japão
<i>Mesophyllum lichenoides</i>	JQ896244	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Mesophyllum vancouveriense</i>	JQ917418	Maneveltdt <i>et al.</i> 2012	-
<i>Lithothamnion glaciale</i>	JQ896233	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Lithothamnion glaciale</i>	JQ422235	Hinda & Saunders 2012	-
<i>Lithothamnion glaciale</i>	KC819271	Pardo <i>et al.</i> 2013	Noruega
<i>Lithothamnion corallioides</i>	KC819256	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Lithothamnion corallioides</i>	KC819265	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Lithothamnion corallioides</i>	JQ896234	Hernandez-Kantun 2012	França
<i>Lithothamnion crispatum</i>	KC963420	Nelson <i>et al.</i> 2013	Nova Zelândia
<i>Lithothamnion crispatum</i>	FJ361502	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Lithothamnion muelleri</i>	JQ896241	Hernandez-Kantun 2012	México
<i>Phymatolithon</i> sp.	KC819250	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon</i> sp.	FJ361384	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon</i> sp.	FJ361381	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon</i> sp.	FJ361422	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon</i> sp.	KC819254	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon calcareum</i>	KC819266	Pardo <i>et al.</i> 2013	França
<i>Phymatolithon calcareum</i>	KC819243	Pardo <i>et al.</i> 2013	Inglaterra
<i>Phymatolithon calcareum</i>	JQ896231	Hernandez-Kantun 2012	Inglaterra
<i>Phymatolithon repandum</i>	DQ167950	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon repandum</i>	DQ167920	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon repandum</i>	DQ167890	Hart <i>et al.</i> 2005	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon repandum</i>	FJ361395	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon repandum</i>	FJ361477	Broom <i>et al.</i> 2008	Nova Zelândia
<i>Phymatolithon lenormandii</i>	JQ896249	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Phymatolithon lamii</i>	JQ896248	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Phymatolithon purpureum</i>	JQ896232	Hernandez-Kantun 2012	Irlanda
<i>Phymatolithon purpureum</i>	KC819253	Pardo <i>et al.</i> 2013	Portugal
<i>Phymatolithon purpureum</i>	KC819260	Pardo <i>et al.</i> 2013	Espanha
<i>Sporolithon ptychoides</i>	KC870927	Bahia <i>et al.</i> 2013	Brasil

Anexo 4. Matriz de distância genética par a par entre as sequências de *psbA* das algas calcárias do presente estudo e a sequências retiradas do GenBank (código de acesso do GenBank).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1- LMC1																						
2- LMC9	7,5%																					
3- LMC10	9,1%	6,9%																				
4- LMC11	8,5%	9,4%	9,3%																			
5- LMC5	11,7%	10,4%	10,4%	10,2%																		
6- LMC12	12,9%	13,1%	12,6%	12,1%	13,9%																	
7- DQ167970	15,0%	15,2%	14,7%	14,4%	15,2%	10,1%																
8- DQ167984	15,2%	13,7%	15,0%	15,0%	14,2%	10,9%	9,7%															
9- DQ167963	12,5%	12,0%	12,5%	12,6%	13,3%	8,8%	8,8%	7,0%														
10- DQ167958	15,3%	15,2%	15,8%	14,9%	14,9%	10,5%	4,3%	9,9%	8,9%													
11- DQ167872	13,4%	13,6%	15,2%	14,5%	15,0%	10,5%	10,4%	7,7%	8,1%	10,7%												
12- JQ896236	12,3%	12,9%	13,6%	12,5%	13,7%	8,0%	10,9%	9,3%	8,3%	10,9%	9,7%											
13- JQ896256	11,8%	13,1%	14,5%	12,5%	14,1%	8,6%	11,3%	11,3%	8,5%	10,7%	9,9%	4,8%										
14- JQ896255	12,3%	14,4%	14,9%	14,1%	14,7%	8,6%	12,1%	10,7%	8,9%	11,8%	9,9%	4,0%	3,5%									
15- JQ896253	12,8%	12,5%	12,9%	12,9%	13,9%	3,7%	10,7%	11,2%	8,6%	11,3%	10,2%	8,8%	8,3%	8,8%								
16- JQ896252	14,1%	14,4%	14,9%	14,5%	15,5%	9,4%	12,6%	8,9%	9,9%	12,6%	9,9%	8,1%	8,9%	8,5%	9,6%							
17- JQ896251	14,7%	14,7%	15,3%	14,9%	16,0%	9,9%	12,9%	9,6%	10,5%	13,3%	10,9%	9,3%	10,4%	9,6%	10,4%	1,4%						
18- JQ896237	12,3%	12,9%	13,6%	12,5%	13,7%	8,0%	10,9%	9,3%	8,3%	10,9%	9,7%	0,0%	4,8%	4,0%	8,8%	8,1%	9,3%					
19- JQ896235	13,3%	13,7%	15,0%	13,9%	16,1%	10,7%	13,4%	13,3%	11,2%	12,8%	12,1%	10,9%	11,5%	11,7%	10,4%	12,9%	13,4%	10,9%				
20- AB576031	13,4%	12,3%	13,4%	12,9%	13,7%	8,3%	11,0%	11,3%	10,4%	10,9%	11,0%	9,6%	10,7%	10,9%	8,0%	10,7%	10,5%	9,6%	12,9%			
21- AB576030	14,4%	14,5%	14,7%	15,3%	15,2%	11,2%	12,1%	11,0%	10,1%	13,1%	11,7%	11,2%	12,0%	12,1%	10,2%	11,7%	11,8%	11,2%	12,8%	12,0%		
22- AB576029	13,6%	14,1%	14,5%	14,5%	15,0%	11,5%	12,3%	11,8%	10,4%	13,1%	11,8%	11,2%	12,0%	12,1%	10,4%	11,8%	12,0%	11,2%	12,6%	12,1%	1,8%	
23- JQ917416	13,3%	12,8%	13,9%	12,8%	14,1%	8,0%	10,7%	9,9%	8,5%	11,5%	8,9%	9,1%	9,4%	9,7%	8,0%	10,1%	10,7%	9,1%	10,9%	9,7%	9,4%	
24- FJ361749	14,2%	12,8%	14,9%	14,9%	15,0%	10,2%	10,1%	6,2%	7,5%	10,4%	7,5%	9,3%	9,9%	9,4%	10,2%	10,7%	11,3%	9,3%	13,4%	11,7%	11,0%	
25- FJ361555	15,0%	13,7%	14,9%	15,2%	14,1%	11,0%	9,9%	0,2%	7,2%	10,1%	7,8%	9,4%	11,5%	10,5%	11,0%	9,1%	9,7%	9,4%	13,1%	11,5%	10,9%	
26- FJ361442	13,6%	12,1%	14,5%	14,5%	15,0%	11,0%	10,1%	6,7%	8,0%	10,7%	7,7%	10,5%	9,9%	10,7%	11,0%	11,5%	12,1%	10,5%	13,6%	12,1%	11,5%	
27- FJ361408	12,3%	11,8%	12,3%	12,5%	13,1%	8,6%	8,6%	7,2%	0,2%	8,8%	8,0%	8,5%	8,3%	9,1%	8,5%	10,1%	10,7%	8,5%	11,0%	10,2%	9,9%	
28- FJ361746	13,1%	11,7%	14,1%	14,1%	14,5%	10,4%	9,7%	6,4%	7,3%	10,4%	7,3%	10,2%	9,3%	10,4%	10,4%	10,9%	11,5%	10,2%	12,9%	12,1%	10,9%	
29- FJ361730	12,9%	13,3%	12,9%	13,3%	13,1%	9,4%	10,5%	8,9%	8,8%	11,3%	9,6%	8,8%	10,4%	10,4%	10,1%	11,3%	11,7%	8,8%	13,7%	10,5%	10,9%	
30- FJ361615	14,4%	13,6%	14,4%	14,5%	14,5%	9,4%	13,3%	12,3%	10,2%	13,3%	12,5%	9,6%	11,7%	11,5%	10,9%	11,3%	12,1%	9,6%	12,8%	11,7%	11,3%	
31- FJ361544	13,4%	12,6%	13,3%	12,9%	14,5%	8,9%	8,8%	7,7%	4,6%	8,9%	8,3%	8,9%	9,6%	9,7%	8,9%	9,9%	10,2%	8,9%	12,1%	10,2%	10,5%	
32- FJ361554	15,0%	13,6%	14,9%	15,2%	14,1%	11,0%	9,9%	0,2%	7,2%	10,1%	7,8%	9,4%	11,5%	10,5%	11,0%	9,1%	9,7%	9,4%	13,1%	11,5%	10,9%	
33- FJ361549	12,3%	11,8%	12,3%	12,5%	13,1%	8,6%	8,6%	7,2%	0,2%	8,8%	8,0%	8,5%	8,3%	9,1%	8,5%	10,1%	10,7%	8,5%	11,0%	10,2%	9,9%	
34- FJ361446	14,9%	14,4%	15,0%	14,1%	14,5%	11,2%	4,2%	8,0%	8,0%	3,8%	9,1%	9,1%	9,7%	10,7%	10,9%	10,5%	11,2%	9,1%	12,1%	10,1%	11,7%	
35- FJ361581	15,3%	15,3%	15,3%	14,5%	15,3%	10,5%	1,8%	8,9%	9,1%	3,8%	9,4%	10,7%	11,2%	11,3%	11,2%	12,0%	12,3%	10,7%	13,4%	11,5%	12,6%	
36- FJ361409	13,6%	12,8%	13,1%	12,8%	14,4%	9,1%	8,6%	7,5%	4,8%	9,1%	8,5%	9,1%	9,7%	9,9%	9,1%	10,1%	10,4%	9,1%	12,3%	10,4%	10,4%	
37- KJ418413	14,9%	15,0%	15,2%	13,9%	14,4%	9,9%	12,5%	11,2%	11,0%	11,8%	11,2%	9,7%	11,3%	11,8%	10,4%	11,5%	11,8%	9,7%	13,3%	11,5%	10,9%	
38- KJ418412	14,2%	14,9%	15,2%	13,6%	14,9%	9,7%	12,1%	11,3%	10,2%	11,8%	11,8%	9,9%	11,0%	11,2%	10,1%	11,3%	11,7%	9,9%	13,3%	11,5%	10,7%	
39- JQ422235	10,2%	9,4%	9,9%	9,1%	6,9%	12,0%	14,5%	14,4%	13,1%	14,2%	13,9%	12,1%	13,3%	13,1%	12,8%	14,4%	14,9%	12,1%	14,7%	13,3%	14,1%	
40- KC963420	10,2%	9,1%	9,3%	9,1%	6,2%	12,5%	15,2%	13,3%	12,8%	14,2%	14,1%	11,5%	12,1%	12,9%	13,1%	13,6%	14,4%	11,5%	15,2%	12,0%	14,2%	
41- KC819271	10,4%	9,4%	9,9%	9,3%	6,7%	12,1%	14,7%	14,5%	13,3%	14,4%	14,1%	12,0%	13,1%	12,9%	12,9%	14,5%	15,0%	12,0%	14,9%	13,4%	14,2%	
42- KC819265	9,7%	7,8%	8,5%	8,9%	5,8%	12,9%	14,4%	13,3%	12,5%	14,1%	13,7%	12,3%	12,6%	13,1%	12,8%	14,4%	15,2%	12,3%	15,7%	11,3%	14,4%	
43- KC819256	9,7%	7,8%	8,5%	8,9%	5,8%	12,9%	14,4%	13,3%	12,5%	14,1%	13,7%	12,3%	12,6%	13,1%	12,8%	14,4%	15,2%	12,3%	15,7%	11,3%	14,4%	
44- JQ896241	11,5%	10,1%	11,2%	10,7%	8,0%	13,6%	15,7%	14,7%	14,2%	15,7%	14,4%	13,7%	14,2%	14,2%	12,6%	16,0%	16,3%	13,7%	14,1%	13,4%	15,3%	
45- JQ896234	9,7%	7,8%	8,5%	8,9%	5,8%	12,9%	14,4%	13,3%	12,5%	14,1%	13,7%	12,3%	12,6%	13,1%	12,8%	14,4%	15,2%	12,3%	15,7%	11,3%	14,4%	
46- JQ896233	10,9%	10,4%	10,7%	9,7%	6,7%	12,0%	14,7%	14,4%	13,3%	14,4%	13,7%	12,0%	13,1%	13,1%	13,3%	15,0%	15,2%	12,0%	15,3%	13,1%	14,4%	
47- FJ361520	10,2%	9,3%	9,4%	9,3%	6,4%	12,6%	15,3%	13,4%	12,9%	14,4%	14,1%	11,7%	12,3%	13,1%	13,1%	13,7%	14,5%	11,7%	15,2%	12,1%	14,4%	
48- DQ167993	8,9%	10,7%	9,6%	8,5%	10,1%	12,5%	15,0%	14,2%	12,8%	14,5%	13,1%	12,0%	12,3%	12,5%	12,1%	14,4%	15,2%	12,0%	12,9%	13,4%	14,9%	
49- DQ167918	10,9%	10,4%	11,2%	10,2%	12,1%	13,1%	17,1%	16,8%	13,1%	16,6%	15,0%	15,0%	12,9%	13,7%	13,7%	12,8%	14,9%	15,0%	12,9%	13,3%	13,9%	14,7%
50- KC819269	4,3%	7,3%	8,6%	8,9%	11,5%	13,4%	16,0%	14,2%	12,8%	16,8%	14,1%	12,3%	12,5%	12,0%	13,3%	13,1%	14,1%	12,3%	13,7%	13,9%	13,4%	
51- KC819268	8,9%	8,6%	8,6%	7,2%	9,7%	10,5%	13,7%	14,2%	12,6%	15,0%	13,4%	12,5%	12,1%	12,8%	11,8%	13,6%	13,7%	12,5%	14,9%	12,0%	13,9%	
52- KC819262	8,9%	8,6%	8,6%	7,2%	9,7%	10,5%	13,7%	14,2%	12,6%	15,0%	13,4%	12,5%	12,1%	12,8%	11,8%	13,6%	13,7%	12,5%	14,9%	12,0%	13,9%	
53- KC819252	4,0%	7,3%	8,1%	9,6%	11,0%	13,4%	15,8%	15,2%	12,9%	16,8%	14,4%	12,8%	12,9%	12,5%	13,6%	13,7%	14,7%	12,8%	13,9%	14,1%	13,9%	
54- KC819249	4,3%	7,3%	8,6%	8,9%	11,5%	13,4%	16,0%	14,2%	12,8%	16,8%	14,1%	12,3%	12,5%	12,0%	13,3%	13,1%	14,1%	12,3%	13,7%	13,9%	13,4%	
55- JQ896246	9,9%	9,4%	9,6%	9,1%	9,9%	11,7%	14,4%	13,4%	12,3%	15,0%	14,1%	12,3%	13,1%	12,9%	11,7%	12,9%	13,4%	12,3%	14,5%	13,1%	13,3%	
56- JQ896245	8,9%	8,6%	8,6%	7,2%	9,7%	10,5%	13,7%	14,2%	12,6%	15,0%	13,4%	12,5%	12,1%	12,8%	11,8%	13,6%	13,7%	12,5%	14,9%	12,0%	13,9%	
57- JQ896244	9,9%	11,0%	10,7%	10,7%	12,1%	14,5%	16,8%	16,8%	14,4%	15,8%	16,1%	15,3%	15,0%	15,2%	14,7%	15,8%	16,3%	15,3%	16,0%	15,0%	15,8%	
58- JQ896243	7,7%	1,8%	7,5%	9,9%	9,7%	13,9%	15,3%	13,1%	12,0%	15,3%	13,3%	13,3%	13,1%	13,7%	13,3%	14,1%	14,4%	13,3%	13,7%	12,8%	14,4%	
59- AB576044	10,4%	9,4%	10,5%	9,4%	9,6%	11,0%	14,4%	13,3%	11,8%	14,4%	13,6%	11,5%	12,0%	11,8%	11,0%	12,3%	12,8%	11,5%	13,9%	12,5%	12,6%	
60- AB576043	10,2%	10,5%	10,4%	10,4%	12,0%	12,0%	13,9%	15,2%	14,1%	14,1%	15,2%	14,1%	13,3%	13,6%	12,5%	14,5%	14,7%	14,1%	15,8%	14,2%	14,5%	
61- JQ917418	8,0%	8,6%	8,6%	8,0%	10,2%	12,3%	15,8%	16,0%	12,8%	15,3%	13,7%	12,8%	12,3%	13,3%	12,6%	14,7%	15,5%	12,8%	14,5%	12,9%	14,5%	
62- FJ361550	10,5%	9,9%	10,7%	9,9%	12,0%	13,4%	16,6%	16,3%	13,4%	16,8%	14,7%	12,6%	13,7%	13,4%	13,1%	14,5%	14,7%	12,6%	14,1%	13,9%	14,9%	
63- FJ361453	10,7%	10,2%	11,0%	10,1%	12,0%	12,9%	16,9%	16,6%	12,9%	16,5%	14,9%	12,8%	13,6%	13,6%	12,6%	14,7%	14,9%	12,8%	13,1%	13,7%	14,5%	
64- FJ361519	10,5%	9,9%	10,7%	9,9%	1																	

Anexo 4. Continuação.

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
1- LMC1																				
2- LMC9																				
3- LMC10																				
4- LMC11																				
5- LMC5																				
6- LMC12																				
7- DQ167970																				
8- DQ167984																				
9- DQ167963																				
10- DQ167958																				
11- DQ167872																				
12- JQ896236																				
13- JQ896256																				
14- JQ896255																				
15- JQ896253																				
16- JQ896252																				
17- JQ896251																				
18- JQ896237																				
19- JQ896235																				
20- AB576031																				
21- AB576030																				
22- AB576029																				
23- JQ917416	9,4%																			
24- FJ361749	11,8%	10,4%																		
25- FJ361555	11,7%	9,7%	6,2%																	
26- FJ361442	12,0%	10,5%	2,1%	6,7%																
27- FJ361408	10,2%	8,3%	7,7%	7,3%	7,8%															
28- FJ361746	11,3%	9,9%	2,1%	6,4%	0,6%	7,2%														
29- FJ361730	10,5%	8,8%	9,4%	8,8%	9,6%	8,6%	8,9%													
30- FJ361615	10,5%	9,7%	12,0%	12,5%	13,1%	10,4%	12,5%	12,3%												
31- FJ361544	10,9%	8,6%	8,6%	7,7%	9,1%	4,8%	8,5%	8,9%	11,8%											
32- FJ361554	11,7%	9,7%	6,2%	0,0%	6,7%	7,3%	6,4%	8,8%	12,5%	7,7%										
33- FJ361549	10,2%	8,3%	7,7%	7,3%	7,8%	0,0%	7,2%	8,6%	10,4%	4,8%	7,3%									
34- FJ361446	11,8%	10,7%	9,3%	8,1%	9,6%	7,8%	9,3%	10,5%	13,1%	8,1%	8,1%	7,8%								
35- FJ361581	12,9%	10,2%	9,7%	9,1%	9,7%	8,9%	9,4%	10,5%	13,9%	8,5%	9,1%	8,9%	3,4%							
36- FJ361409	10,7%	8,8%	8,6%	7,5%	9,1%	5,0%	8,5%	8,8%	12,0%	0,3%	7,5%	5,0%	8,3%	8,6%						
37- KJ418413	11,0%	9,9%	11,5%	11,3%	12,1%	10,9%	11,5%	9,9%	11,8%	10,7%	11,3%	10,9%	12,0%	12,5%	10,5%					
38- KJ418412	11,2%	10,5%	11,7%	11,5%	12,3%	10,4%	11,7%	10,4%	12,0%	10,4%	11,5%	10,4%	12,0%	12,5%	10,2%	1,9%				
39- JQ422235	13,9%	13,1%	13,6%	14,2%	13,3%	12,9%	12,8%	12,6%	14,2%	13,3%	14,2%	12,9%	14,2%	14,2%	13,4%	13,9%	13,9%			
40- KC963420	14,2%	13,3%	13,1%	13,1%	12,5%	12,6%	12,0%	12,9%	14,2%	14,4%	13,1%	12,6%	13,9%	14,9%	14,5%	13,4%	13,4%	5,3%		
41- KC819271	14,1%	13,3%	13,7%	14,4%	13,4%	13,1%	12,9%	12,8%	14,4%	13,4%	14,4%	13,1%	14,4%	14,4%	13,6%	14,1%	14,1%	0,2%	5,1%	
42- KC819265	13,9%	12,8%	13,4%	13,1%	13,1%	12,3%	12,6%	12,3%	14,1%	14,1%	13,1%	12,3%	14,1%	14,7%	13,9%	14,5%	14,9%	4,3%	4,3%	4,2%
43- KC819256	13,9%	12,8%	13,4%	13,1%	13,1%	12,3%	12,6%	12,3%	14,1%	14,1%	13,1%	12,3%	14,1%	14,7%	13,9%	14,5%	14,9%	4,3%	4,3%	4,2%
44- JQ896241	14,9%	14,5%	15,2%	14,5%	15,2%	14,4%	14,7%	14,1%	14,9%	14,5%	14,5%	14,4%	15,3%	16,0%	14,4%	13,7%	14,4%	7,5%	7,8%	7,3%
45- JQ896234	13,9%	12,8%	13,4%	13,1%	13,1%	12,3%	12,6%	12,3%	14,1%	14,1%	13,1%	12,3%	14,1%	14,7%	13,9%	14,5%	14,9%	4,3%	4,3%	4,2%
46- JQ896233	14,2%	13,4%	13,6%	14,2%	13,3%	13,1%	12,8%	12,6%	14,5%	13,7%	14,2%	13,1%	14,4%	14,4%	13,9%	14,2%	14,4%	1,6%	5,1%	1,4%
47- FJ361502	14,4%	13,4%	13,3%	13,3%	12,6%	12,8%	12,1%	13,1%	14,4%	14,5%	13,3%	12,8%	14,1%	15,0%	14,7%	13,6%	13,6%	5,4%	0,2%	5,3%
48- DQ167993	14,5%	13,6%	13,7%	14,1%	13,1%	12,6%	12,6%	12,5%	14,2%	13,7%	14,1%	12,6%	14,2%	15,5%	13,6%	13,3%	14,1%	8,8%	9,3%	8,9%
49- DQ167918	13,4%	13,9%	15,2%	16,6%	14,9%	12,9%	14,4%	13,1%	13,6%	13,7%	16,6%	12,9%	16,3%	16,9%	13,9%	15,3%	15,8%	10,2%	10,7%	10,4%
50- KC819269	13,3%	12,3%	13,7%	14,1%	13,1%	12,6%	12,6%	13,1%	13,9%	13,9%	14,1%	12,6%	15,2%	16,0%	14,1%	14,5%	13,9%	9,3%	9,9%	9,4%
51- KC819268	13,4%	12,3%	13,4%	14,1%	13,1%	12,5%	12,6%	12,3%	14,7%	12,6%	14,1%	12,5%	14,1%	14,5%	12,5%	13,9%	13,3%	8,6%	8,5%	8,5%
52- KC819262	13,4%	12,3%	13,4%	14,1%	13,1%	12,5%	12,6%	12,3%	14,7%	12,6%	14,1%	12,5%	14,1%	14,5%	12,5%	13,9%	13,3%	8,6%	8,5%	8,5%
53- KC819252	13,6%	12,8%	14,5%	15,0%	13,6%	12,8%	13,1%	13,3%	13,7%	14,1%	15,0%	12,8%	15,7%	16,1%	14,2%	15,7%	15,0%	9,3%	10,1%	9,4%
54- KC819249	13,3%	12,3%	13,7%	14,1%	13,1%	12,6%	12,6%	13,1%	13,9%	13,9%	14,1%	12,6%	15,2%	16,0%	14,1%	14,5%	13,9%	9,3%	9,9%	9,4%
55- JQ896246	12,8%	11,8%	13,4%	13,3%	13,4%	12,1%	12,9%	12,1%	13,7%	12,6%	13,3%	12,1%	13,7%	14,5%	12,8%	12,9%	12,6%	9,3%	9,7%	9,1%
56- JQ896245	13,4%	12,3%	13,4%	14,1%	13,1%	12,5%	12,6%	12,3%	14,7%	12,6%	14,1%	12,5%	14,1%	14,5%	12,5%	13,9%	13,3%	8,6%	8,5%	8,5%
57- JQ896244	15,3%	14,7%	17,6%	16,6%	17,1%	14,2%	16,6%	15,8%	14,5%	16,1%	16,6%	14,2%	16,8%	16,9%	16,3%	16,0%	16,0%	9,9%	11,7%	10,1%
58- JQ896243	13,7%	13,1%	12,8%	12,9%	12,1%	11,8%	11,7%	13,1%	14,2%	13,1%	12,9%	11,8%	14,1%	15,5%	13,3%	15,0%	14,5%	9,6%	9,1%	9,6%
59- AB576044	12,5%	11,5%	12,5%	13,1%	12,8%	11,7%	12,3%	12,3%	13,7%	12,1%	13,1%	11,7%	13,4%	14,5%	12,3%	11,7%	11,7%	9,7%	9,6%	9,6%
60- AB576043	15,0%	13,3%	13,9%	15,0%	13,6%	13,9%	13,1%	13,3%	14,9%	13,7%	15,0%	13,9%	14,9%	14,1%	13,9%	15,2%	15,2%	11,5%	11,3%	11,5%
61- JQ917418	13,7%	12,3%	14,4%	15,8%	13,7%	12,6%	13,3%	12,5%	13,4%	12,8%	15,8%	12,6%	15,5%	16,0%	12,9%	14,2%	14,2%	9,1%	8,9%	9,3%
62- FJ361550	13,6%	13,9%	15,0%	16,1%	14,7%	13,3%	14,2%	12,6%	13,7%	13,4%	16,1%	13,3%	16,3%	16,5%	13,6%	15,0%	15,3%	10,1%	10,9%	10,2%
63- FJ361453	13,3%	13,7%	15,0%	16,5%	14,7%	12,8%	14,2%	12,9%	13,4%	13,6%	16,5%	12,8%	16,1%	16,8%	13,7%	15,2%	15,7%	10,1%	10,5%	10,2%
64- FJ361519	13,6%	13,9%	15,0%	16,1%	14,7%	13,3%	14,2%	12,6%	13,7%	13,4%	16,1%	13,3%	16,3%	16,5%	13,6%	15,0%	15,3%	10,1%	10,9%	10,2%
65- FJ361517	13,9%	12,8%	13,7%	14,7%	13,7%	12,5%	13,3%	12,1%	13,9%	13,9%	14,7%	12,5%	14,7%	14,7%	13,7%	14,7%	15,5%	9,1%	9,7%	8,9%
66- DQ167950	14,2%	13,1%	14,9%	13,9%	14,2%	12,0%	13,7%	13,4%	15,3%	12,6%	13,9%	12,0%	13,9%	14,9%	12,5%	14,4%	14,4%	8,1%	7,3%	8,1%
67- DQ167920	13,9%	13,3%	14,4%	13,7%	14,4%	12,3%	13,9%	13,3%	15,7%	12,6%	13,7%	12,3%	13,9%	14,7%	12,5%	13,9%	13,9%	8,0%	7,8%	8,0%
68- DQ167890	13,9%	13,3%	14,4%	13,7%	14,4%	12,3%	13,9%	13,3%	15,7%	12,6%	13,7%	12,3%	13,9%	14,7%	12,5%	13,9%	13,9%	8,0%	7,8%	8,0%
69- KC819266	14,9%	12,8%	15,3%	14,5%	15,2%	12,8%	14,5%	12,9%	14,1%	14,4%	14,5%	12,8%	15,8%	16,1%	14,5%	14,5%	14,9%	8,8%	7,7%	8,9%
70- KC819260	15,5%	13,7%	13,7%	15,7%	13,6%	12,8%	12,9%	13,1%	15,2%	13,7%	15,7%	12,8%	15,8%	15,8%	13,9%	15,0%	15,3%	9,6%	8,9%	9,4%
71- KC819254	15,5%	13,7%	14,1%	15,7%	13,6%	12,8%	12,9%	13,1%	15,5%	13,7%	15,7%	12,8%	15,8%	15,8%	13,9%	15,0%	15,3%	9,9%	9,3%	9,7%
72- KC819253	15,5%	13,7%	13,7%	15,7%	13,6%	12,8%	12,9%	13,1%	15,2%	13,7%	15,7%	12,8%	15,8%	15,8%	13,9%	15,0%	15,3%	9,6%	8,9%	9,4%
73- KC819250	15,3%	13,1%	15,2%	14,5%	15,0%	13,1%	14,4%	13,7%	14,9%	14,1%	14,5%	13,1%	15,8%	16,1%	14,2%	15,0%	15,3%	9,4%	8,1%	9,6%
74- KC819243	14,9%	12,8%	15,3%	14,5%	15,2%	12,8%	14,5%	12,9%	14,1%	14,4%	14,5%	12,8%	15,8%	16,1%	14,5%	14,5%	14,9%	8,8%	7,7%	8,9%
75- JQ896249	14,2%	13,6%	15,3%	14,7%	15,2%	13,4%	14,5%	14,4%	14,7%	14,2%	14,7%	13,4%	14,5%	15,0%	14,4%	14,5%	15,0%	9,6%	8,1%	9,4%
76- JQ896248	15,0%	13,3%	14,7%	15,2%	14,9%	14,2%	14,2%	13,9%	15,8%	14,2%	15,2%	14,2%	15,3%	15,2%	14,1%	14,2%	14,9%	8,6%	8,6%	8,8%
77- JQ896232	15,5%	13,7%	13,7%	15,7%	13,6%	12,8%	12,9%	13,1%	15,2%	13,7%	15,7%	12,8%	15,8%	15,8%	13,9%	15,0%	15,3%	9,6%	8,9%	9,4%
78- JQ896231	14																			

Anexo 4. Continuação.

	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	
1- LMC1																						
2- LMC9																						
3- LMC10																						
4- LMC11																						
5- LMC5																						
6- LMC12																						
7- DQ167970																						
8- DQ167984																						
9- DQ167963																						
10- DQ167958																						
11- DQ167872																						
12- JQ896236																						
13- JQ896256																						
14- JQ896255																						
15- JQ896253																						
16- JQ896252																						
17- JQ896251																						
18- JQ896237																						
19- JQ896235																						
20- AB576031																						
21- AB576030																						
22- AB576029																						
23- JQ917416																						
24- FJ361749																						
25- FJ361555																						
26- FJ361442																						
27- FJ361408																						
28- FJ361746																						
29- FJ361730																						
30- FJ361615																						
31- FJ361544																						
32- FJ361554																						
33- FJ361549																						
34- FJ361446																						
35- FJ361581																						
36- FJ361409																						
37- KJ418413																						
38- KJ418412																						
39- JQ422235																						
40- KC963420																						
41- KC819271																						
42- KC819265																						
43- KC819256	0,0%																					
44- JQ896241	7,0%	7,0%																				
45- JQ896234	0,0%	0,0%	7,0%																			
46- JQ896233	4,2%	4,2%	7,8%	4,2%																		
47- FJ361502	4,5%	4,5%	8,0%	4,5%	5,3%																	
48- DQ167993	8,8%	8,8%	11,0%	8,8%	9,1%	9,3%																
49- DQ167918	10,5%	10,5%	12,9%	10,5%	10,5%	10,9%	8,0%															
50- KC819269	9,3%	9,3%	11,7%	9,3%	10,2%	9,9%	9,9%	11,5%														
51- KC819268	8,0%	8,0%	11,0%	8,0%	9,3%	8,6%	8,0%	10,1%	9,3%													
52- KC819262	8,0%	8,0%	11,0%	8,0%	9,3%	8,6%	8,0%	10,1%	9,3%	0,0%												
53- KC819252	9,1%	9,1%	12,1%	9,1%	10,1%	10,1%	9,4%	11,2%	1,8%	9,4%	9,4%											
54- KC819249	9,3%	9,3%	11,7%	9,3%	10,2%	9,9%	9,9%	11,5%	0,0%	9,3%	9,3%	1,8%										
55- JQ896246	8,8%	8,8%	10,1%	8,8%	9,7%	9,9%	10,2%	12,0%	9,4%	5,4%	5,4%	10,2%	9,4%									
56- JQ896245	8,0%	8,0%	11,0%	8,0%	9,3%	8,6%	8,0%	10,1%	9,3%	0,0%	0,0%	9,4%	9,3%	5,4%								
57- JQ896244	9,4%	9,4%	11,7%	9,4%	11,2%	11,8%	11,0%	12,1%	10,4%	10,1%	10,1%	10,2%	10,4%	10,1%	10,1%							
58- JQ896243	8,3%	8,3%	10,9%	8,3%	10,2%	9,3%	10,1%	10,5%	7,5%	8,6%	8,6%	7,5%	7,5%	10,1%	8,6%	11,5%						
59- AB576044	8,9%	8,9%	10,4%	8,9%	10,2%	9,7%	9,1%	11,7%	9,6%	5,3%	5,3%	10,5%	9,6%	2,1%	5,3%	10,9%	9,7%					
60- AB576043	11,3%	11,3%	12,0%	11,3%	12,0%	11,5%	9,6%	11,8%	10,7%	7,8%	7,8%	10,5%	10,7%	7,5%	7,8%	12,5%	10,4%	7,8%				
61- JQ917418	8,9%	8,9%	10,9%	8,9%	10,1%	9,1%	8,8%	9,6%	8,5%	7,8%	7,8%	8,5%	8,5%	9,7%	7,8%	8,1%	9,6%	10,2%	10,5%			
62- FJ361550	10,1%	10,1%	12,5%	10,1%	10,7%	11,0%	7,7%	1,6%	10,5%	9,4%	9,4%	10,7%	10,5%	11,2%	9,4%	11,5%	10,1%	10,7%	10,9%	9,4%		
63- FJ361453	10,4%	10,4%	12,8%	10,4%	10,4%	10,7%	7,8%	0,2%	11,3%	9,9%	9,9%	11,0%	11,3%	11,8%	9,9%	12,0%	10,4%	11,5%	11,7%	9,4%	1,4%	
64- FJ361519	10,1%	10,1%	12,5%	10,1%	10,7%	11,0%	7,7%	1,6%	10,5%	9,4%	9,4%	10,7%	10,5%	11,2%	9,4%	11,5%	10,1%	10,7%	10,9%	9,4%	0,0%	
65- FJ361517	8,1%	8,1%	11,3%	8,1%	9,4%	9,7%	5,4%	8,6%	9,9%	9,1%	9,1%	9,6%	9,9%	10,2%	9,1%	10,5%	10,7%	9,6%	9,4%	10,2%	8,0%	
66- DQ167950	7,5%	7,5%	10,7%	7,5%	9,1%	7,5%	8,5%	9,9%	8,5%	6,2%	6,2%	8,6%	8,5%	8,5%	6,2%	10,4%	8,0%	8,3%	9,3%	7,8%	9,3%	
67- DQ167920	7,7%	7,7%	10,5%	7,7%	8,9%	8,0%	9,1%	9,9%	8,6%	6,2%	6,2%	9,1%	8,6%	7,8%	6,2%	10,7%	8,6%	7,7%	9,3%	8,1%	8,9%	
68- DQ167890	7,7%	7,7%	10,5%	7,7%	8,9%	8,0%	9,1%	9,9%	8,9%	6,5%	6,5%	9,3%	8,9%	8,1%	6,5%	10,7%	8,6%	8,0%	9,4%	8,1%	8,9%	
69- KC819266	6,9%	6,9%	9,7%	6,9%	9,4%	7,8%	10,4%	12,1%	10,4%	10,7%	10,7%	10,4%	10,4%	9,4%	10,7%	10,9%	10,2%	10,1%	12,1%	10,1%	11,7%	
70- KC819260	8,3%	8,3%	10,9%	8,3%	10,2%	9,1%	9,3%	10,9%	11,0%	10,2%	10,2%	10,7%	11,0%	10,4%	10,2%	11,2%	12,3%	10,7%	10,9%	9,7%	10,4%	
71- KC819254	8,3%	8,3%	11,2%	8,3%	10,5%	9,4%	9,6%	11,2%	11,3%	10,5%	10,5%	11,0%	11,3%	10,7%	10,5%	10,9%	12,3%	11,0%	11,2%	9,7%	10,7%	
72- KC819253	8,3%	8,3%	10,9%	8,3%	10,2%	9,1%	9,3%	10,9%	11,0%	10,2%	10,2%	10,7%	11,0%	10,4%	10,2%	11,2%	12,3%	10,7%	10,9%	9,7%	10,4%	
73- KC819250	7,5%	7,5%	10,2%	7,5%	10,2%	8,3%	11,0%	12,1%	10,9%	10,5%	10,5%	10,7%	10,9%	9,3%	10,5%	11,3%	10,5%	9,9%	11,3%	9,7%	11,7%	
74- KC819243	6,9%	6,9%	9,7%	6,9%	9,4%	7,8%	10,4%	12,1%	10,4%	10,7%	10,7%	10,4%	10,4%	9,4%	10,7%	10,9%	10,2%	10,1%	12,1%	10,1%	11,7%	
75- JQ896249	8,5%	8,5%	8,9%	8,5%	10,1%	8,3%	11,5%	12,3%	12,0%	11,5%	11,5%	12,0%	12,0%	10,1%	11,5%	12,1%	10,9%	10,7%	11,7%	10,2%	12,0%	
76- JQ896248	7,3%	7,3%	9,1%	7,3%	9,6%	8,8%	9,6%	12,0%	11,3%	10,5%	10,5%	11,3%	11,3%	10,4%	10,5%	11,5%	10,9%	10,4%	10,5%	9,3%	11,8%	
77- JQ896232	8,3%	8,3%	10,9%	8,3%	10,2%	9,1%	9,3%	10,9%	11,0%	10,2%	10,2%	10,7%	11,0%	10,4%	10,2%	11,2%	12,3%	10,7%	10,9%	9,7%	10,4%	
78- JQ896231	6,9%	6,9%	9,7%	6,9%	9,4%	7,8%	10,4%	12,1%	10,4%	10,7%	10,7%	10,4%	10,4%	9,4%	10,7%	10,9%	10,2%	10,1%	12,1%	10,1%	11,7%	
79- FJ361477	9,6%	9,6%	10,9%	9,6%	9,9%	9,9%	7,2%	8,5%	9,4%	7,5%	7,5%	9,3%	9,4%	10,1%	7,5%	11,0%	8,9%	8,6%	9,9%	9,3%	7,8%	
80- FJ361422	10,2%	10,2%	11,7%	10,2%	10,9%	10,9%	8,1%	9,1%	10,1%	8,1%	8,1%	9,9%	10,1%	10,5%	8,1%	12,0%	9,6%	8,9%	10,2%	9,9%	8,5%	
81- FJ361395	7,7%	7,7%	10,5%	7,7%	8,9%	8,0%	9,1%	9,9%	8,6%	6,2%	6,2%	9,1%	8,6%	7,8%	6,2%	10,7%	8,6%	7,7%	9,3%	8,1%	8,9%	
82- FJ361384	9,6%	9,6%	10,9%	9,6%	9,9%	9,9%	7,2%	8,5%	9,4%	7,5%	7,5%	9,3%	9,4%	10,1%	7,5%	11,0%	8,9%	8,6%	9,9%	9,3%	7,8%	
83- FJ361381	9,6%	9,6%	10,9%	9,6%	9,9%	9,9%	7,2%	8,5%	9,4%	7,5%	7,5%	9,3%	9,4%	10,1%	7,5%	11,0%	8,9%	8,6%	9,9%	9,3%	7,8%	
84- KC870926	10,5%	10,5%	12,8%	10,5%	12,5%	11,3%	12,9%	14,5%	14,4%	13,9%	13,9%	14,1%	14,4%	12,5%	13,9%	13,6%	12,8%	13,3%	13,9%	13,6%	14,1%	

Anexo 4. Continuação.

	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	
1- LMC1																							
2- LMC9																							
3- LMC10																							
4- LMC11																							
5- LMC5																							
6- LMC12																							
7- DQ167970																							
8- DQ167984																							
9- DQ167963																							
10- DQ167958																							
11- DQ167872																							
12- JQ896236																							
13- JQ896256																							
14- JQ896255																							
15- JQ896253																							
16- JQ896252																							
17- JQ896251																							
18- JQ896237																							
19- JQ896235																							
20- AB576031																							
21- AB576030																							
22- AB576029																							
23- JQ917416																							
24- FJ361749																							
25- FJ361555																							
26- FJ361442																							
27- FJ361408																							
28- FJ361746																							
29- FJ361730																							
30- FJ361615																							
31- FJ361544																							
32- FJ361554																							
33- FJ361549																							
34- FJ361446																							
35- FJ361581																							
36- FJ361409																							
37- KJ418413																							
38- KJ418412																							
39- JQ422235																							
40- KC963420																							
41- KC819271																							
42- KC819265																							
43- KC819256																							
44- JQ896241																							
45- JQ896234																							
46- JQ896233																							
47- FJ361502																							
48- DQ167993																							
49- DQ167918																							
50- KC819269																							
51- KC819268																							
52- KC819262																							
53- KC819252																							
54- KC819249																							
55- JQ896246																							
56- JQ896245																							
57- JQ896244																							
58- JQ896243																							
59- AB576044																							
60- AB576043																							
61- JQ917418																							
62- FJ361550																							
63- FJ361453																							
64- FJ361519	1,4%																						
65- FJ361517	8,5%	8,0%																					
66- DQ167950	9,7%	9,3%	8,5%																				
67- DQ167920	9,7%	8,9%	8,6%	0,6%																			
68- DQ167890	9,7%	8,9%	8,6%	1,0%	0,3%																		
69- KC819266	12,0%	11,7%	10,4%	10,1%	9,9%	9,9%																	
70- KC819260	10,7%	10,4%	8,8%	9,6%	9,7%	9,7%	8,3%																
71- KC819254	11,0%	10,7%	9,1%	9,9%	10,1%	10,1%	8,3%	0,3%															
72- KC819253	10,7%	10,4%	8,8%	9,6%	9,7%	9,7%	8,3%	0,0%	0,3%														
73- KC819250	12,0%	11,7%	10,7%	10,2%	10,1%	10,2%	1,6%	8,0%	8,0%	8,0%													
74- KC819243	12,0%	11,7%	10,4%	10,1%	9,9%	9,9%	0,0%	8,3%	8,3%	8,3%	1,6%												
75- JQ896249	12,1%	12,0%	10,9%	10,2%	10,1%	10,1%	5,1%	9,3%	9,3%	9,3%	5,4%	5,1%											
76- JQ896248	11,8%	11,8%	10,9%	9,7%	9,9%	9,9%	5,9%	7,7%	7,7%	7,7%	5,8%	5,9%	7,2%										
77- JQ896232	10,7%	10,4%	8,8%	9,6%	9,7%	9,7%	8,3%	0,0%	0,3%	0,0%	8,0%	8,3%	9,3%	7,7%									
78- JQ896231	12,0%	11,7%	10,4%	10,1%	9,9%	9,9%	0,0%	8,3%	8,3%	8,3%	1,6%	0,0%	5,1%	5,9%	8,3%								
79- FJ361477	8,3%	7,8%	8,3%	8,5%	8,5%	8,5%	11,2%	10,4%	10,7%	10,4%	11,5%	11,2%	12,0%	10,4%	10,4%	11,2%							
80- FJ361422	8,9%	8,5%	8,6%	8,8%	8,8%	8,8%	11,8%	11,0%	11,3%	11,0%	12,1%	11,8%	12,6%	11,2%	11,0%	11,8%	1,4%						
81- FJ361395	9,7%	8,9%	8,6%	0,6%	0,0%	0,3%	9,9%	9,7%	10,1%	9,7%	10,1%	9,9%	10,1%	9,9%	9,7%	9,9%	8,5%	8,8%					
82- FJ361384	8,3%	7,8%	8,3%	8,5%	8,5%	8,5%	11,2%	10,4%	10,7%	10,4%	11,5%	11,2%	12,0%	10,4%	10,4%	11,2%	0,0%	1,4%	8,5%				
83- FJ361381	8,3%	7,8%	8,3%	8,5%	8,5%	8,5%	11,2%	10,4%	10,7%	10,4%	11,5%	11,2%	12,0%	10,4%	10,4%	11,2%	0,0%	1,4%	8,5%	0,0%			
84- KC870926	14,4%	14,1%	11,8%	14,1%	14,2%	14,2%	12,0%	10,2%	10,2%	10,2%	12,5%	12,0%	13,1%	11,8%	10,2%	12,0%	14,4%	15,2%	14,2%	14,4%	14,4%		