

Rosângela da Silva Medeiros

Diversidade e filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) no Atlântico tropical e subtropical com ênfase na costa da Venezuela

Diversity and phylogeny of the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta) in the tropical and subtropical Atlantic with emphasis on the coast of Venezuela

São Paulo, SP

2022

Rosângela da Silva Medeiros

EXEMPLAR CORRIGIDO

Diversidade e filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) no Atlântico tropical e subtropical com ênfase na costa da Venezuela

Diversity and phylogeny of the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta) in the tropical and subtropical Atlantic with emphasis on the coast of Venezuela

EXEMPLAR CORRIGIDO da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Mestre em Botânica na Área de Biologia das Algas.

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Cassano

São Paulo, SP

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário:
'<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>'

Medeiros, Rosângela
Diversidade e filogenia do complexo *Laurencia*
(Ceramiales, Rhodophyta) no Atlântico tropical e
subtropical com ênfase na costa da Venezuela /
Rosângela Medeiros ; orientadora Valéria Cassano --
São Paulo, 2022.
171 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo. Programa
de Pós-Graduação em Botânica.

1. COI-5P. 2. métodos de delimitação de espécies.
3. rbcL. 4. Rhodomelaceae. 5. Taxonomia. I.
Cassano, Valéria, orient. II. Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação:
Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).



Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dra. Valéria Cassano
Orientadora

“Lá está o mar, tão extenso e vasto, fervilhando de inúmeros seres vivos, pequenos e grandes.”

Tradução do Novo Mundo da
Bíblia Sagrada (Salmo
104:25)

“E quem fechou com portas o mar quando ele repentinamente saiu do ventre, quando o vesti com nuvens e o envolvi com densas trevas, quando estabeleci meu limite para ele e coloquei suas portas e trancas, e disse: ‘Você pode chegar até aqui, não além disso; Aqui param as suas ondas orgulhosas’?”

Tradução do Novo Mundo da
Bíblia Sagrada (Jó 38:8-11)

“Fui eu que pus a areia como limite para o mar, um decreto eterno que ele não pode ultrapassar. As ondas se agitam, mas não podem prevalecer; Elas rugem, mas ainda assim não podem ultrapassá-lo.”

Tradução do Novo Mundo da
Bíblia Sagrada (Jeremias
5:22)

Agradecimentos

À minha orientadora, Profa. Dra. Valéria Cassano, por sua disponibilidade, interesse, incentivo, compreensão, paciência e total dedicação. Sou grata por toda confiança que depositou em mim, e por ter me mantido motivada durante todo o percurso do projeto apesar dos desafios que o período de pandemia trouxe a todos nós. As suas contribuições e apoio constante fizeram toda diferença para mim! Você é obviamente uma professora tão apaixonada e inteligente...é impossível não admirar. Esse é um lembrete rápido para que você saiba que foi a melhor professora que eu já tive. Mal posso esperar para continuar aprendendo com você! Obrigada por me inspirar e me ajudar a dar o meu melhor. Eu sou muito, muito grata todos os dias!

Ao Gabriel do Nascimento Santos, por sua doce amizade, ensino, e pelo grande e recorrente apoio. Obrigada por acreditar no meu potencial, pelas inúmeras horas que dispensou no meu treinamento e pela sua paciência com minhas perguntas sem fim e os meus dramas diários. Eu realmente aprendi muito com você. Você foi uma das minhas companhias mais agradáveis durante esse período— inclusive saudades. Você comemorou comigo enquanto as coisas iam bem, e deixou meu coração mais tranquilo quando não iam, isso é mais do que muitas pessoas têm a sorte de ter. Obrigada, sinceramente.

Ao Nuno Martins, por estar sempre pronto a me ajudar, conversar e aconselhar. Perdi as contas de quantas vezes você se colocou à disposição nesses dois últimos anos, até quando você estava passando por momentos difíceis. Mesmo durante esse período de isolamento nunca me senti sozinha de fato, porque sempre soube que estaria lá por mim e isso vai além do que posso expressar em palavras. Você é fantástico! Saiba que sempre pode contar comigo, sério.

Aos colegas Beatriz Vera, Sonia Ardito, Santiago Gómez, Amália Brito, Marion Cordero, Yugreisy Polanco, Jorge Escobar, Juan Linares, Aidé Velásquez, Matilde Duque, Celia Moreno, Abel Sentíes e Mutue T. Fuiii pela parceria e colaboração fundamental nas coletas de material utilizado para a realização desse projeto e informações trocadas. Ciência nunca se faz sozinho e foi muito gratificante ver isso na prática com todo apoio de vocês!

À Patrícia González por me introduzir nos estudos de morfologia de *Laurencia* com toda paciência, amor e calma do mundo! Tenho muita admiração pela mulher que você é na ciência e na vida. Obrigada por tanto.

Ao professor Fred Gurgel, por ter preparado com tanto carinho uma das disciplinas mais importantes que cursei durante o mestrado. Obrigada por ser sempre tão atencioso e gentil em sala de aula e ao responder os meus e-mails e por me ensinar com toda paciência do mundo!

À Inara Regina e a Michele Christine pelo companheirismo, amizade e toda paciência enquanto eu tentava decifrar o R. Vocês são demais!

Ao Victor Carneiro por toda ajuda e carinho. Seu ânimo contagiava o laboratório inteiro.

À Tatiana Corrêa do GaTE Lab por todas as placas sequenciadas com todo cuidado e empenho. Muito bacana conhecer profissionais tão dedicados como você.

A todos os que trabalharam comigo no LAM e contribuíram de forma direta e indireta com minha pesquisa, é uma honra trabalhar com pessoas tão extraordinárias como vocês!

Ao Patrik Frödén, curador assistente do Herbário de Lund (LD), Suécia, por fornecer imagens dos espécimes tipo de *Laurencia scoparia*.

À minha mãe Neves, por me inspirar de tantas maneiras diferentes, pelo apoio incondicional, por me ensinar tanto com seu exemplo de dedicação e força, por sempre me acolher, me amar e por me ensinar a nunca desistir. Você é incrível, eu te amo com todo meu coração.

Ao meu pai Maurício, por me ajudar a ser a minha melhor versão, a superar os desafios, e devolver a paz para o meu coração inquieto quando mais preciso.

À Mayara Schmidt: Você é a minha melhor amiga, por toda minha existência será assim. Todos os dias acordo sorrindo só de lembrar que eu tenho a melhor amiga do mundo inteiro ao meu lado para me dar todo amor, suporte e carinho que eu preciso. Você é a minha pessoa preferida do Universo. Eu não conseguiria realizar projeto algum sem a serenidade que sua amizade me traz. Eu te amo muitíssimo.

Ao Vasco Medeiros por deixar todos os meus dias mais leves e me dar um sorriso de orelha a orelha, não importa qual seja o assunto da nossa conversa. Eu admiro muito quem você é, e quem está se tornando a cada dia. Para mim é um privilégio ser amada por você e eu espero sempre poder ter a chance de te mostrar como pra mim você é único

no mundo. Nenhuma escala de tempo seria o bastante com você. É isso, eu te amo mais a cada batida do meu coração, e esse é um amor atemporal. Não passa um único dia em que eu não me sinta a pessoa mais sortuda por ter te conhecido.

Ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro durante todo o meu mestrado.

À Jeová, o criador do Universo, por suas maravilhosas criações que nos enchem de encanto pela vida e de desejo de decifrar os seus mistérios, mas principalmente porque sem Ele nada seria possível.

ÍNDICE

Resumo	vi
Abstract	viii
Lista de abreviaturas	x
Lista de Tabelas	xi
Lista de Figuras	xiv
1 Introdução	1
1.1 Rhodophyta Wettstein	1
1.2 Complexo <i>Laurencia</i> J.V. Lamouroux.....	3
1.3 Costa Venezuelana	7
1.4 Presença do complexo <i>Laurencia</i> na Venezuela.....	8
1.5 Marcadores moleculares utilizados no complexo <i>Laurencia</i>	12
2 Justificativa	13
3 Objetivos	14
3.1 Objetivos gerais	14
3.2 Objetivos específicos.....	14
4 Material e Métodos	15
4.1 Coleta.....	15
4.2 Estudo molecular.....	19
4.2.1 Marcadores moleculares	19
4.2.2 Extração de DNA.....	20
4.2.3 Amplificação por PCR.....	20
4.2.4 Sequenciamento de DNA.....	22
4.2.5 Matrizes.....	22
4.2.6 Análises de agrupamento.....	23
4.2.6.1 Automatic Barcode Gap Discovery, ABGD.....	23
4.2.6.2 Assemble Species by Automatic Partitioning, ASAP.....	24
4.2.6.3 Generalized Mixed Yule Coalescent, GMYC.....	24
4.2.6.4 Poisson Tree Process, PTP.....	25
4.2.7 Delimitação das espécies.....	25
4.2.8 Análises filogenéticas.....	26

4.3 Estudo morfológico.....	35
5 Resultados.....	38
5.1 Sinopse dos táxons estudados.....	38
5.2 Estudo molecular.....	42
5.2.1 Análises com o marcador COI-5P.....	42
5.2.1.1 Gênero <i>Chondrophyucus</i>	43
5.2.1.2 Gênero <i>Laurencia</i>	44
5.2.1.3 Gênero <i>Palisada</i>	54
5.2.2 Análises com o marcador <i>rbcL</i>	61
5.2.2.1 Gênero <i>Laurencia</i>	62
5.2.2.2 Gênero <i>Palisada</i>	69
5.3 Estudo Morfológico	77
5.3.1 <i>Chondrophyucus</i> sp.	77
5.3.2 <i>Laurencia caraibica</i> P.C. Silva.....	82
5.3.3 <i>Laurencia catarinensis</i> Cordeiro-Marino & M.T. Fujii.....	85
5.3.4 <i>Laurencia dendroidea</i> J. Agardh	89
5.3.5 <i>Laurencia natalensis</i> Kylin.....	100
5.3.6 <i>Laurencia</i> aff. <i>microcladia</i> Kutzinger.....	105
5.3.7 <i>Palisada flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam.....	110
5.3.8 <i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 1 (Bory) K.W.Nam.....	115
5.3.9 <i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 2.....	121
6 Discussão Geral.....	125
7 Conclusões.....	131
Referências	135

RESUMO

O complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodomelaceae) é um grupo de algas vermelhas altamente diverso e amplamente distribuído ao redor do globo. Muitas espécies são de difícil identificação por sua alta plasticidade morfológica e limites mal definidos, levando a nomes mal aplicados e históricos taxonômicos conflituosos. O complexo vem sendo estudado no Atlântico tropical e subtropical gerando avanços no conhecimento da sua diversidade. Neste contexto, a Venezuela se destaca por sua grande diversidade de algas marinhas, e por se configurar como uma lacuna no entendimento da diversidade do complexo *Laurencia* no Oceano Atlântico pela carência de informação florística e taxonômica atualizada, descrições incompletas e não uniformes das espécies e carência de dados moleculares. O objetivo do presente estudo foi identificar e delimitar as espécies desse complexo, combinando dados morfológicos, análises filogenéticas, técnica de DNA *barcoding* e métodos de delimitação de espécies de marcador único, a fim de compreender a diversidade do complexo *Laurencia* no país. Para o estudo molecular foram empregados o marcador plastidial *rbcL* e o mitocondrial do tipo DNA *barcode* COI-5P e aplicados quatro métodos de delimitação de espécies (ABGD, ASAP, PTP e GMYC). Os métodos de delimitação de espécies auxiliaram nas decisões taxonômicas, porém levando-se em conta também outras linhas de evidência como características morfológicas e divergências genéticas dos dois marcadores estudados. Nossos resultados confirmaram a presença de nove táxons do complexo *Laurencia* na Venezuela: *Chondrophyucus* sp., *Laurencia caraibica*, *L. catarinensis*, *L. dendroidea*, *L. natalensis*, *L. aff. microcladia*, *Palisada flagellifera*, *P. aff. perforata* 1 e *P. aff. perforata* 2. As análises com o COI-5P e os métodos de delimitação de espécies revelaram que *L. dendroidea* e *P. perforata*, como circunscritas atualmente, formam complexos de espécies que não foram evidenciados em estudos anteriores com o *rbcL*. *Laurencia* aff. *microcladia*, *Palisada* aff. *perforata* 1 e *Palisada* aff. *perforata* 2 foram segregadas como linhagens independentes e necessitam de maiores estudos para uma delimitação mais precisa. *Laurencia catarinensis* é citada pela primeira vez para a Venezuela e o Mar do Caribe, expandindo sua distribuição geográfica no Atlântico ocidental. *Chondrophyucus* sp., não teve correspondência genética com nenhuma espécie do gênero disponível no Genbank e a combinação das características, presença de camada cortical translúcida e arranjo paralelo dos tetrasporângios, não é compartilhada com outras espécies descritas do gênero, indicando que este táxon é uma potencial espécie nova para a Ciência. Das

espécies tradicionalmente referidas para a Venezuela, *L. obtusa* corresponde a um nome mal aplicado de *L. dendroidea* e deve ser removida da flora venezuelana; *Laurencia filiformis*, *Palisada intermedia* e *Osmundea pinnatifida* podem ser igualmente nomes mal aplicados para o país, porém necessitam de maior investigação para essa confirmação, e *Yuzurua poiteaui* var. *gemmifera* permanece como uma citação duvidosa para a Venezuela. Particularmente, a circunscrição de *L. filiformis* da Venezuela se enquadra em *L. "scoparia"* (sinônimo de *L. dendroidea*), cujas morfologias são distintas, evidenciadas pelos seus materiais-tipo. O status taxonômico de *L. "scoparia"* deve ser reavaliado por meio de sequências de DNA, ainda indisponíveis, especialmente do topótipo (La Guaira, Venezuela). Ainda quatro espécies citadas para a Venezuela não foram amostradas e não puderam ser confirmadas neste estudo: *Laurencia decumbens*, *L. foldatsii*, *L. gracilis* e *L. intricata*. Nossos resultados evidenciam claramente a necessidade de uma maior amostragem no litoral venezuelano empregando-se uma abordagem integrativa por meio de marcadores moleculares em análises isoladas ou multigênicas e estudos filogenômicos combinados com dados morfológicos.

Palavras-chave: COI-5P, métodos de delimitação de espécies, *rbcL*, Rhodomelaceae, Taxonomia

ABSTRACT

The *Laurencia* complex (Ceramiaceae, Rhodomelaceae) is a highly diverse group of red algae widely distributed around the globe. Many species are difficult to identify due to their high morphological plasticity and ill-defined boundaries, leading to misapplied names and conflicting taxonomic histories. The complex has been studied in the tropical and subtropical Atlantic, generating advances in the knowledge of its diversity. In this context, Venezuela stands out for its great diversity of marine algae, and for being a gap in the understanding of the diversity of the *Laurencia* complex in the Atlantic Ocean due to the lack of updated floristic and taxonomic information, incomplete and non-uniform descriptions of the species and lack of molecular data. The objective of the present study was to identify and delimit the species of this complex, combining morphological data, phylogenetic analyses, DNA barcoding technique and single-marker species delimitation methods, to understand the diversity of the *Laurencia* complex in the country. For the molecular study, the plastid marker *rbcL* and the mitochondrial DNA barcode COI-5P marker were used, and four species delimitation methods were applied (ABGD, ASAP, PTP and GMYC). The methods of species delimitation helped in taxonomic decisions, but also considering other lines of evidence such as morphological characteristics and genetic divergences of the two studied markers. Our results confirmed the presence of nine taxa of the *Laurencia* complex in Venezuela: *Chondrophyucus* sp., *Laurencia caraibica*, *L. catarinensis*, *L. dendroidea*, *L. natalensis*, *L. aff. microcladia*, *Palisada flagellifera*, *P. aff. perforata* 1 and *P. aff. perforata* 2. Analysis with COI-5P and species delimitation methods revealed that *L. dendroidea* and *P. perforata*, as currently circumscribed, form species complexes that were not evidenced in previous studies with *rbcL*. *Laurencia aff. microcladia*, *Palisada aff. perforata* 1 and *Palisada aff. perforata* 2 were segregated as independent lineages and need further studies for a more precise delimitation. *Laurencia catarinensis* is cited for the first time for Venezuela and the Caribbean Sea, expanding its geographic distribution in the western Atlantic. *Chondrophyucus* sp. had no genetic correspondence with any species of the genus available in Genbank and the combination of characteristics, presence of translucent cortical layer and parallel arrangement of tetrasporangia, is not shared with other described species of the genus, indicating that this taxon is a potential new species to Science. Of the species traditionally referred to Venezuela, *L. obtusa* corresponds to a misapplied name of *L. dendroidea* and must be removed from the Venezuelan flora; *Laurencia filiformis*, *Palisada intermedia* and *Osmundea pinnatifida* may also be

misapplied names for the country, but require further investigation for confirmation, and *Yuzurua poiteaui* var. *gemmifera* remains an uncertain citation for Venezuela. Particularly, the circumscription of *L. filiformis* from Venezuela fits into *L. "scoparia"* (synonym of *L. dendroidea*), whose morphologies are distinct, evidenced by their type materials. The taxonomic *status* of *L. "scoparia"* must be reassessed through DNA sequences, still unavailable, especially from the topotype (La Guaira, Venezuela). Still four species mentioned for Venezuela were not sampled and could not be confirmed in this study: *Laurencia decumbens*, *L. foldatsii*, *L. gracilis* and *L. intricata*. Our results clearly demonstrate the need for broader sampling on the Venezuelan coast through an integrative approach using molecular markers in isolated or multi-locus analyses, and phylogenomic studies combined with morphological data.

Key-words: COI-5P, *rbcL*, Rhodomelaceae, species delimitation methods, Taxonomy

LISTA DE ABREVIATURAS

ABGD: “Automatic Barcode Gap Discovery”

ASAP: “Assemble Species by Automatic Partitioning”

BI: Inferência Bayesiana

COI-5P: região 5’ (barcode) do gene *cox1* que codifica a subunidade 1 da enzima citocromo c oxidase

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

GMYC: “Generalized Mixed Yule Coalescent Approach”

ITS: espaçador interno transcrito

ML: Maximum-likelihood

NJ: Neighbor Joining

nt: nucleotídeos

pb: pares de base

PP: Probabilidade posterior

PCR: ‘Polymerase Chain Reaction’ ou reação em cadeia da polimerase

PTP: “Poisson Tree Processes”

rbcL: gene que codifica a subunidade grande da Rubisco

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

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

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos gêneros do complexo <i>Laurencia</i> , baseada em Fujii <i>et al.</i> (1996), Nam (1999, 2006), Nam <i>et al.</i> (1994), Cassano <i>et al.</i> (2019).	5
Tabela 2. Lista de espécies do complexo <i>Laurencia</i> citadas para Venezuela e importantes áreas em que foram reportadas de acordo com Web Ficoflora Venezuela (2022).	8
Tabela 3. Lista dos locais de coleta visitados na costa venezuelana com seus respectivos dados de amostragem.	16
Tabela 4. Ciclos de amplificação de DNA utilizados nesse estudo para os marcadores <i>rbcL</i> e COI-5P.	21
Tabela 5. Relação de <i>primers</i> direto (F) e reverso (R) para os marcadores utilizados (<i>rbcL</i> e COI-5P) na amplificação por PCR e no sequenciamento.	21
Tabela 6. Lista de sequências de COI-5P obtidas do GenBank e usadas para o enriquecimento das análises moleculares desse estudo.	27
Tabela 7. Lista de sequências de <i>rbcL</i> obtidas do GenBank e usadas para o enriquecimento das análises moleculares desse estudo.	30
Tabela 8. Lista das amostras sequenciadas neste estudo, incluindo dados de coleta, sigla de identificação das sequências e tamanho em pares de base (pb) dos marcadores moleculares utilizados.	39
Tabela 9. Divergência entre as sequências de COI-5P de <i>Chondrophyucus</i> sp. da Venezuela e da Nova Caledônia.	44
Tabela 10. Divergência entre as sequências de COI-5P de <i>L. dendroidea</i> da linhagem formada por sequências da Venezuela, Espanha e Brasil e as sequências obtidas neste estudo.	48
Tabela 11. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>L. dendroidea</i> do Brasil, Espanha, Venezuela e os identificados como <i>L. dendroidea</i> da Austrália e Havaí, EUA.	49
Tabela 12. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>L. natalensis</i> da Venezuela.	50

Tabela 13. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>L. caduciramulosa</i> do Brasil e Espanha, <i>L. microcladia</i> das Ilhas Virgens, Bermudas e <i>L. aff. microcladia</i> da Venezuela.	53
Tabela 14. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>L. catarinensis</i> do Brasil (localidade tipo), Espanha, Bermudas e dos espécimes da Venezuela.	53
Tabela 15. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>P. aff. perforata</i> 1 da Espanha e Venezuela.	57
Tabela 16. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>P. perforata</i> da Espanha e da Venezuela e <i>Palisada aff. perforata</i> 2.	58
Tabela 17. Divergência entre as sequências do COI-5P de <i>P. flagellifera</i> das Bermudas, Espanha e Venezuela.	58
Tabela 18. Divergência entre as sequências do <i>rbcL</i> de <i>L. dendroidea</i> do Brasil, Venezuela, Bermudas e Austrália.	64
Tabela 19. Divergência entre as sequências do <i>rbcL</i> de <i>Laurencia aff. microcladia</i> da Venezuela, <i>Laurencia microcladia</i> das Bermudas, <i>L. laurahuertana</i> e <i>L. venusta</i> do México e Austrália e <i>L. caduciramulosa</i> do Brasil.	67
Tabela 20. Divergência entre as sequências do <i>rbcL</i> de <i>L. natalensis</i> da África do Sul e da Venezuela.	68
Tabela 21. Divergência entre as sequências do <i>rbcL</i> de <i>L. caraibica</i> do México e Venezuela.	68
Tabela 22. Divergência entre as sequências de <i>rbcL</i> de <i>P. perforata</i> da Espanha, México, Brasil, Bermudas e Venezuela.	69
Tabela 23. Comparação da divergência intraespecífica (%) para os marcadores COI-5P e <i>rbcL</i> obtida nesse estudo.	72
Tabela 24. Comparação da divergência intra- e interespecífica (%) dos genes COI-5P e <i>rbcL</i> para o complexo <i>Laurencia</i> de acordo com diferentes autores.	73
Tabela 25. Comparação da divergência intergenérica (%) para os marcadores COI-5P e <i>rbcL</i> para os gêneros do complexo <i>Laurencia</i> .	76
Tabela 26. Comparação das características morfológicas de <i>Chondrophyucus</i> sp. e espécies relacionadas.	81

- Tabela 27.** Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes identificados como *L. caraibica* da Venezuela, Brasil e México 85
- Tabela 28.** Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. catarinensis* do Brasil (localidade tipo), Venezuela e Ilhas Canárias 88
- Tabela 29.** Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. natalensis* da África do Sul (localidade tipo) e Venezuela. 104
- Tabela 30.** Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. microcladia* das Bermudas e Ilhas Virgens e *L. aff. microcladia* da Venezuela. 110

LISTA DE FIGURAS

Fig 1. Mapa ilustrando os pontos de coleta ao longo da costa da Venezuela	18
Fig 2. Praias visitadas para as coletas do material estudado	19
Fig 3. Árvore consenso de máxima verossimilhança (ML) para 149 sequências, incluindo uma do grupo externo, inferida para o COI-5P	59
Fig 4. Análise de máxima verossimilhança (ML) para sequências de COI-5P de espécies do complexo <i>Laurencia</i> da Venezuela e sequências obtidas do GenBank, e resultados de métodos de delimitação de espécies de marcador único	60
Fig 5. Árvore consenso de máxima verossimilhança (ML) para 136 sequências incluindo três do grupo externo, inferida do <i>rbcL</i>	71
Figuras 6-15. <i>Chondrophycus</i> sp	78
Figuras 16-21. <i>Laurencia caraibica</i> P.C.Silva	83
Figuras 22-28. <i>Laurencia catarinensis</i> Cordeiro-Marino & M.T.Fujii	87
Figuras 29-43. <i>Laurencia dendroidea</i> J. Agardh	91
Figuras 44-59 Morfotipo de <i>L. scoparia</i> J. Agardh	96
Figuras 60-63 Fotografias dos isótipos de <i>L. scoparia</i> depositadas no Museu Botânico de Lund, Suécia	98
Figuras 64-67. <i>Laurencia dendroidea</i> J. Agardh. Lectótipo depositado no Museu Botânico de Lund, Suécia	99
Figuras 68-78. <i>Laurencia natalensis</i> Kylin	102
Figuras 79-94. <i>Laurencia</i> aff. <i>microcladia</i> Kützing	107
Figuras 95-108. <i>Palisada flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam	112
Figuras 109-119. <i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 1 (Bory) K.W. Nam	117
Figura 120. <i>Laurencia intermedia</i> Yamada, reproduzida de Rodríguez de Ríos (1979)	121
Figura 121. <i>Palisada intermedia</i> (Yamada) K.W. Nam, reproduzida de Nam (2011)	121
Figuras 122-129. <i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 2 (Bory) K.W. Nam	122
Figuras 130-131. <i>Laurencia papillosa</i> (C. Agardh) Greville, reproduzida de Rodríguez de Ríos (1979)	124

1 INTRODUÇÃO

1.1 Rhodophyta Wettstein, 1901

As algas vermelhas (Filo Rhodophyta) formam uma das principais linhagens monofiléticas de eucariontes (Yoon *et al.* 2006), com 7.488 espécies descritas, atualmente representando mais de 60% das espécies de macroalgas conhecidas (Guiry & Guiry 2022). A linhagem, sustentada por análises filogenéticas de genes nucleares, plastidiais e mitocondriais (Freshwater *et al.* 1994, Ragan *et al.* 1994, Van de Peer & De Wachter 1997, Burger *et al.* 1999, Yoon *et al.* 2002, 2004, 2006), possui grande diversidade morfológica, reprodutiva e de históricos de vida. Essa grande diversificação é refletida nas diversas classificações propostas para esse grupo ao longo dos anos. Estudos taxonômicos tradicionais em Rhodophyta são baseados na análise comparada de caracteres anatômicos de estruturas reprodutivas, no desenvolvimento de estruturas pós-fertilização, nos padrões de histórico de vida e na anatomia vegetativa (Saunders & Hommersand 2004). Portanto, a identificação e delimitação de espécies em Rhodophyta constitui, muitas vezes, uma tarefa difícil, particularmente quando os espécimes não estão férteis. A combinação de estudos moleculares produzidos nas últimas décadas tem levado a grandes avanços no entendimento da diversidade e das inter-relações filogenéticas nas algas vermelhas, auxiliando na identificação de gêneros e espécies, assim como elucidando categorias taxonômicas superiores. Distintos esquemas de classificação foram propostos no início dos anos 2000 e anos subsequentes, como os de Saunders & Hommersand (2004), Yoon *et al.* (2006) e Muñoz-Gómez *et al.* (2017). Saunders & Hommersand (2004) propuseram uma classificação baseada em filogenias moleculares anteriores e caracteres ultraestruturais (por exemplo, associação Golgi – ER), organizando as algas vermelhas em dois filios distintos, Rhodophyta e Cyanidiophyta e cinco classes, sendo uma dessas a classe parafilética Rhodellophyceae, que inclui formas unicelulares e pseudofilamentosas. Yoon *et al.* (2006) propuseram uma nova classificação das algas vermelhas baseada em análises de sete proteínas e sequência de DNA de nove genes e concluíram que Rhodophyta constitui um único filo, que contém dois subfilos com sete linhagens bem sustentadas: subfilo Cyanidiophytina H.S. Yoon, K.M. Müller, R.G. Sheath, F.D. Ott & D. Bhattacharya com uma única classe Cyanidiophyceae Merola, Castaldo, De Luca, Gambarella, Musacchio & Taddei e subfilo Rhodophytina H.S. Yoon, K.M. Müller, R.G. Sheath, F.D. Ott & D. Bhattacharya com seis classes, Bangiophyceae Wettstein, Florideophyceae Cronquist,

Compsopogonophyceae Saunders et Hommersand, Rhodellophyceae Cavalier-Smith, Porphyridiophyceae H. S. Yoon, K. M. Muller, R. G. Sheath, F. D. Ott et D. Bhattacharya e Stylonematophyceae H.S. Yoon, K.M. Muller, R.G. Sheath, F.D. Ott et D. Bhattacharya, essas duas últimas estabelecidas para solucionar a parafilia de Rhodellophyceae, embora as relações entre as últimas quatro classes não tenham sido resolvidas. O esquema de classificação mais atualizado para Rhodophyta foi proposto por Muñoz-Gómez *et al.* (2017), que inclui o estabelecimento de um terceiro subfilo, Proteorhodophytina S. A. Muñoz-Gómez, F. G. Mejía-Franco, K. Durnin, M. Colp, C. J. Grisdale, J. M. Archibald & C. H. Slamovits, proposto com base em genomas plastidiais para acomodar as quatro classes, Compsopogonophyceae, Rhodellophyceae, Porphyridiophyceae e Stylonematophyceae, que na análise filogenômica formaram um grande grupo monofilético, enquanto que em Rhodophytina permaneceram apenas duas classes, Bangiophyceae e Florideophyceae. Proteorhodophytina compreende o genoma plastidial mais rico em introns e uma organização quadripartida definida por repetições invertidas (IRs) que contêm o operon do gene rRNA. No entanto, diferentemente da organização quadripartida de algumas algas vermelhas e da maioria dos cpDNAs das plantas verdes, esses IRs diferem em relação à região de cópia única pequena (SSC), sendo notavelmente mais curtas (402-457 bp de comprimento) e sem nenhum gene. O alto grau de divergência desses cpDNAs também é visto em seus genomas altamente rearranjados.

Florideophyceae é a classe mais representativa do filo Rhodophyta, com 7.082 espécies (Guiry & Guiry 2022), e é distinguida pelo seu crescimento por meio de células apicais e iniciais laterais formando talos filamentosos ou pseudoparenquimatosos ramificados, nos quais as células são unidas por ligações secundárias (“pit-connections”), apresentam histórico de vida fundamentalmente trifásico consistindo nas fases gametofítica, carposporofítica e tetrasporofítica, e estruturas reprodutivas (monosporângios, tetrasporângios, espermatângios, carposporângios) geralmente terminais ou laterais nos filamentos (Womersley 1994, Guiry & Guiry 2022).

Dentro de Florideophyceae está inserida a ordem Ceramiales, a maior da classe em número de espécies, 2.703 (Guiry & Guiry 2022). A ordem é caracterizada pela formação de célula auxiliar diretamente da célula suporte após a fecundação (Hommersand 1963, Womersley 1994). Atualmente, a ordem abriga cinco famílias: Callithamniaceae Kutzing, Ceramiaceae Dumortier, Delesseriaceae Bory,

Rhodomelaceae Areschoug e Wrangeliaceae J. Agardh (Guiry & Guiry 2022), sendo Rhodomelaceae a família em que está inserida o complexo *Laurencia*. A família é caracterizada por apresentar crescimento uniaxial, estrutura polissifônica, na qual as células pericentraes são produzidas por divisões longitudinais tangenciais a partir das células do filamento axial e, especialmente, pela formação específica das células pericentraes, que se dividem em uma sequência alterna (Scagel 1953, Maggs & Hommersand 1993).

1.2 Complexo *Laurencia*

O complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodomelaceae) é um grupo de algas vermelhas marinhas amplamente distribuídas ao redor do mundo, com maior representatividade nas zonas entremarés de regiões tropicais e subtropicais, assim como em regiões temperadas (McDermid 1988, Silva *et al.* 1996). Engloba 396 espécies, sendo 238 taxonomicamente aceitas atualmente (Guiry & Guiry 2022).

O gênero *Laurencia sensu lato*, descrito por J.V. Lamouroux (1813), é altamente diverso, compreendendo espécies que possuem características distintas normalmente diagnósticas em nível genérico. Desta forma, tem-se empregado o termo ‘complexo *Laurencia*’ para refletir essa diversidade morfológica. Conforme novas características morfológicas foram sendo propostas ao longo de quatro décadas (Saito 1967, Nam *et al.* 1994, Garbary & Harper 1998, Nam 1999, 2006) e marcadores moleculares foram empregados, gêneros adicionais foram estabelecidos ao complexo, levando ao reconhecimento atualmente de oito gêneros: *Laurencia* J.V.Lamouroux *sensu stricto*, *Chondrophyucus* (Tokida & Saito) Garbary & J. T. Harper (1998), *Osmundea* Stackhouse (Nam *et al.* 1994), *Palisada* (Yamada) K.W. Nam (2007), *Yuzurua* (K.W.Nam) Martin-Lescanne (Martin-Lescanne *et al.* 2010), *Laurenciella* Cassano, Gil-Rodríguez, Senties, Díaz-Larrea, M. C. Oliveira & M. T. Fujii (Cassano *et al.* 2012a), *Ohelopapa* F. Rousseau, Martin-Lescanne, Payri & L. Le Gall (Rousseau *et al.* 2017) e *Corynecladia* J. Agardh (Cassano *et al.* 2019) (= *Coronaphycus* Metti (Metti *et al.* 2015).

Laurencia sensu lato possui grande importância ecológica e econômica (Abbott 1984). Do ponto de vista ecológico pode-se citar o papel na cadeia alimentar, a proteção que fornece a pequenos organismos contra predadores e servindo como local de fixação e desenvolvimento de seus ovos (Senties & Fujii 2002). São também hospedeiras potenciais de macro e microalgas (Fujii 1990). Dentre o papel econômico é considerável

seu uso na alimentação (Abbott 1984), como fonte de fármacos (Chapman 1970, Díaz-Piferrer 1979) e ficocoloides (Díaz-Piferrer 1979, Zablackis & McDermid 1988), especialmente o gênero *Laurencia s.s.* Estudos prévios também vêm destacando a grande diversidade química no que tange os seus metabólitos secundários (Fenical & Norris 1975, Erickson 1983, Faulkner, 1984, 1986, 1987, 1990), mais de 700 metabólitos, entre sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e C₁₅ acetogeninas foram isolados a partir de espécies desse complexo (Maschek & Baker 2008), alguns dos quais com forte atividade biológica. Uma revisão dos metabólitos secundários empregados na saúde humana e produzidos por espécies de *Laurencia s.s.* no Brasil foi feita por Fujii *et al.* (2011), dentre as atividades biológicas descritas, destacam-se atividade antihelmíntica (Davyt *et al.* 2001), antitripanossômica (Veiga-Santos *et al.* 2010), antileishmania (Santos *et al.* 2010, Machado *et al.* 2011), antifúngica (Stein *et al.* 2011), citotóxica (Stein *et al.* 2011) e antiviral contra o vírus HSV-1 (Teixeira 2013). Além disso, destaca-se a utilização industrial do elatol, um anti-incrustante natural, produzido por *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Teixeira 2013).

Morfológicamente, o complexo *Laurencia* é caracterizado por apresentar célula apical sempre imersa em uma depressão nos ápices dos eixos e ramos, rodeada por tricoblastos ramificados, segmento axial reconhecível somente próximo ao ápice e presença de corticação ao longo do talo (Falkenberg 1901, Kylin 1923, 1956). Os gêneros do complexo são de relativo fácil reconhecimento e podem ser distinguidos por uma combinação de características vegetativas e reprodutivas, dentre elas: (1) número de células pericentraes por segmento vegetativo, (2) posição da primeira célula pericentral relativa ao tricoblasto, (3) origem dos tetrasporângios, (4) presença ou ausência de fertilidade na segunda célula pericentral, (5) número de células pericentraes estéreis no eixo tetrasporangial, (6) origem dos ramos espermatangiais, (7) padrão de formação dos ramos espermatangiais no tricoblasto, (8) número de células pericentraes em segmentos contendo o procarpo no tricoblasto feminino e (9) características pós-fertilização associadas ao tempo de formação de células auxiliares (Nam 1999, 2006) sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização dos gêneros do complexo *Laurencia*, baseada em Fujii *et al.* (1996), Nam (1999, 2006), Nam *et al.* (1994), Cassano *et al.* (2019).

Gêneros/ caracteres	Nº de céls. pericentrais	Origem dos tetraesporângios	Origem dos ramos espermatangiais	Posição da 1a. cél. pericentral relativa ao tricoblasto	Pericentrais férteis no segmento tetrasporangial	Produção dos filamentos espermatangias nos tricoblastos	Nº. de céls. pericentrais no procarpo
<i>Laurencia</i>	4	pericentral	Tipo tricoblasto	abaixo	2a., 3a. ou 4a. Sem pericentrais adicionais.	1 fértil e 1 estéril	5
<i>Chondrophyucus</i>	2	pericentral	Tipo tricoblasto	ao lado	2a. pericentral NUNCA fértil; pericentrais adicionais.	1 fértil e 1 parcialmente estéril	5
<i>Palisada</i>	2	pericentral	Tipo tricoblasto	abaixo	2a. pericentral SEMPRE fértil; pericentrais adicionais.	1 fértil e 1 estéril	4
<i>Yuzurua</i>	2	pericentral	Tipo tricoblasto	-	2a. pericentral SEMPRE fértil; pericentrais adicionais.	-	5
<i>Osmundea</i>	2	cortical	Tipo filamento	ao lado	cortical	cortical	5(6)
<i>Laurenciella</i>	4	pericentral	Tipo tricoblasto	abaixo	2a., 3a. ou 4a. Sem Pericentrais adicionais.	1 fértil e 1 estéril	5
<i>Ohelopapa</i>	4	-	Tipo tricoblasto	abaixo	?	1 fértil e 1 estéril	?
<i>Corynecladia</i>	4	pericentral	Tipo tricoblasto	abaixo	?	1 fértil e 1 estéril	5

Os gêneros *Laurencia s.s.*, *Laurenciella*, *Corynecladia* e *Ohelopapa* podem ser distintos dos demais por apresentarem quatro células pericentrais por segmento axial vegetativo, enquanto *Osmundea*, *Chondrophyucus*, *Palisada* e *Yuzurua* apresentam duas células (Nam *et al.* 1994, Fujii *et al.* 1996, Garbary & Harper 1998, Nam 1999, 2006, Cassano *et al.* 2012a, 2019, Francis *et al.* 2017). *Laurencia s.s.* é caracterizado pela presença de *corps en cerise* nas células corticais e tricoblastos (organelas intracelulares refrativas, principal local de armazenamento de compostos halogenados), ramos espermatangiais desenvolvidos a partir da célula suprabasal do tricoblasto, desenvolvidos em grupos dicotomicamente ramificados, denominados ‘tipo tricoblasto’, tetrasporângios formados a partir de uma determinada célula pericentral e arranjados paralelamente em relação ao eixo longitudinal do ramo (Nam *et al.* 1994). O gênero *Laurenciella* é indistinto morfológicamente de *Laurencia s.s.* e foi proposto exclusivamente com base no gene *rbcL* (Cassano *et al.* 2012a).

Em *Osmundea*, a produção de tetrasporângios se dá ao acaso a partir de células corticais, em vez de células pericentrais particulares, e os ramos espermatangiais são originados diretamente a partir das células corticais, formando grupos de filamentos alternadamente ramificados, denominados ‘tipo filamento’, em vez do ‘tipo tricoblasto’, que ocorre em todos os demais gêneros do complexo (Nam *et al.* 1994). O gênero *Chondrophyucus* é caracterizado pela produção de ramos espermatangiais a partir dos dois ramos laterais do tricoblasto sobre a célula suprabasal (um dos ramos permanecendo parcialmente estéril), e um eixo tetrasporangial cuja segunda célula pericentral nunca é fértil, resultando em um eixo com duas células pericentrais estéreis (Nam 1999). No gênero *Palisada*, os ramos espermatangiais são produzidos a partir de um dos ramos laterais do tricoblasto sobre sua célula suprabasal, e a segunda célula pericentral no eixo tetrasporangial é sempre fértil, resultando em um eixo com uma célula pericentral estéril (Nam 2006, 2007). *Yuzurua* compartilha muitas características morfológicas com *Palisada*, diferindo pela presença de ligações secundárias entre as células corticais e pela presença de segmentos portadores de procarpo com cinco células pericentrais em vez de quatro (Fujii *et al.* 1996). O gênero *Ohelopapa* apresenta características comuns com o gênero *Laurencia s.s.* como quatro células pericentrais por segmento vegetativo, mas carece de ligações secundárias e de *corps en cerise* nas células corticais (Rousseau *et al.* 2017). *Corynecladia* (= *Coronaphycus*) igualmente compartilha muitas características diagnósticas com *Laurencia s.s.* e *Laurenciella* (quatro células pericentrais e presença de ligações secundárias), sendo distinto desses dois gêneros por evidências moleculares e

anatômicas (corticação secundária na base dos eixos e numerosos grãos de amido nas células corticais e medulares, presentes apenas em *Corynecladia*) (Metti *et al.* 2015, Cassano *et al.* 2019).

Enquanto os gêneros que compõem o complexo são de relativo fácil reconhecimento, a identificação das espécies é um desafio em diversas partes do mundo, especialmente pela grande plasticidade fenotípica que as espécies apresentam, pela dificuldade na observação de alguns caracteres morfológicos para uma identificação segura e pela falta de descrições completas (Sentís & Fujii 2002, Cassano *et al.* 2012a). Assim, considerando o número elevado de espécies descritas, a ampla distribuição geográfica e a grande dificuldade envolvendo a taxonomia do complexo *Laurencia*, a obtenção de dados moleculares tem sido fundamental para estudos da diversidade e das inter-relações entre as espécies do grupo visando esclarecer as entidades taxonômicas e inferir suas relações filogenéticas.

1.3 Costa venezuelana

O Oceano Atlântico ocidental tropical e subtropical, que se estende desde a Carolina do Norte até a Argentina, é uma das zonas de maior riqueza de espécies de algas marinhas bentônicas (Miloslavich *et al.* 2010). Nesse contexto, a Venezuela se destaca por ser um país com uma importante diversidade de algas marinhas, carecendo, por outro lado, de informação florística e taxonômica atualizada. São muitos registros de espécies pouco documentadas, raras e de identificação taxonômica incerta (Web Ficoflora Venezuela 2022). Muitas regiões do país permanecem sem um inventário, possuindo apenas algumas coleções ao longo do tempo para fins didáticos de cursos acadêmicos (Web Ficoflora Venezuela 2022).

Considerando o impacto antrópico sofrido em muitas praias da costa venezuelana (como turismo, a destruição de habitats de muitas espécies e a exploração demasiada de recursos marinhos), que podem modificar drasticamente a diversidade de algas existentes, (Garcia-Soto & Lopez-Bautista, 2014), avaliar esse impacto se torna um desafio quando grande parte das espécies é mal estudada ou desconhecida.

1.4 Presença do complexo *Laurencia* na Venezuela

Particularmente, a Venezuela constitui uma área importante de ocorrência de espécies do complexo *Laurencia*, sendo reportadas, até o momento, 19 espécies e uma variedade, sendo onze espécies do gênero *Laurencia*, quatro de *Palisada*, duas de *Osmundea*, uma de *Chondrophyucus* e uma de *Yuzurua*, no entanto, os gêneros *Corynecladia*, *Laurenciella* e *Ohelopapa* não são citados na região (Rodríguez de Ríos 1979, Ganesan 1989, Web Ficoflora Venezuela 2022) (Tabela 2). Das espécies listadas na Tabela 2, algumas são raras ou endêmicas, como *Laurencia foldatsii* N. Rodríguez Rios (Rodríguez de Rios 1981), endêmica da Venezuela (Hernández *et al.* 2017), ou *L. gracilis* J.D. Hooker & Harvey, rara no Atlântico (além da Venezuela, a espécie é citada apenas para o Indo-Pacífico), ou *O. pinnatifida* (Hudson) Stackhouse e *O. oederi* (Gunnerus) G. Furnari (como *Laurencia bolivarii* N. Rodríguez Rios), raras no Atlântico ocidental. Dos 20 táxons citados na Tabela 2, apenas três foram estudados molecularmente, *L. natalensis* Kylin (García-Soto & Lopéz-Bautista 2019), *L. digitata* Francis, Bolton, Mattio & R.J. Anderson e *Chondrophyucus anabeliae* Sentíes, M.T. Fujii, Cassano & Dreckmann, esses dois últimos recentemente reportados como novas ocorrências para a costa venezuelana, sendo *L. digitata* citada pela primeira vez para o Oceano Atlântico (Cassano *et al.* 2020).

Tabela 2. Lista de espécies do complexo *Laurencia* citadas para Venezuela e importantes áreas em que foram reportadas de acordo com Web Ficoflora Venezuela (2022).

Espécie	Localidade-tipo	Principais referências e localidades
1. <i>Chondrophyucus anabeliae</i> Sentíes, M.T.Fujii, Cassano & Dreckmann	México, Quintana Roo, Isla Mujeres, Garrafón de Castilla	Cassano <i>et al.</i> (2020, Cayo Muerto, Parque Nacional Morrocoy, Falcón)
2. <i>Laurencia caraibica</i> P.C.Silva	Bahamas, Abraham Bay, Mariguana [Mayaguana]	Como <i>L. nana</i> M. Howe <i>nom. illeg</i> (Hammner & Gessner 1967, Ganesan 1983, 1989, Archipelago Los Roques, Bahía de Mochima, Parque Nacional Mochima, Sucre)
3. <i>L. decumbens</i> Kützing	Nova Caledônia	Como <i>L. pygmaea</i> Weber van Bosse (Rodríguez de Ríos & Lobo 1984, Lobo & Rodríguez de Ríos 1985, Cayo Muerto, Cayo Sal, P.N. Morrocoy, Falcón); como <i>L. decumbens</i> (Barrios <i>et al.</i> 2003, P.N. Mochima, Sucre)

4. <i>L. dendroidea</i> J. Agardh	Brasil	Como <i>L. scoparia</i> (J. Agardh 1852, La Guaira, Taylor 1942, 1960, Territorio Insular Francisco de Miranda, Rodríguez de Ríos 1972, Cumarebo, Península de Paraguaná, Falcón, Rodríguez de Ríos 1979, P.N. Morrocoy, Falcón, La Guaira (Naiguatá, Taguao), Carabobo, Aragua, Rodríguez de Ríos & Lobo 1984, Sucre); como <i>L. dendroidea</i> (Ardito 2013, Carabobo, Rodríguez <i>et al.</i> 2013, Garrido & García 2017, Isla de Margarita, Nova Esparta; Barrios-Montilla <i>et al.</i> 2021, Isla de Cubagua, Nuova Esparta)
5. <i>L. digitata</i> Francis, Bolton, Mattio & R.J.Anderson	África do Sul, KwaZulu-Natal, Cape Vidal	Cassano <i>et al.</i> (2020, Cayo Muerto, Parque Nacional Morrocoy, Falcón)
6 <i>L. filiformis</i> (C.Agardh) Montagne	"Ad oras occidentales novae Hollandiae" [Austrália Ocidental]	Rodríguez de Ríos & Saito (1985, P.N. Morrocoy, Falcón, La Guaira (Chichirivite, Naiguatá, Taguao), Carabobo, Aragua), Lobo & Rodríguez de Ríos (1985, Cayo Sal, P.N. Morrocoy, Falcón), Ardito & García (2009, Miranda), Ardito (2013, Carabobo), Canelon <i>et al.</i> 2014, Huapaya 2017 (La Guaira, La Salina), Costilla (2019, Miranda)
7. <i>L. foldatsii</i> N. Rodríguez de Ríos	Venezuela, Taguao, próximo a Arrecife	Rodríguez de Ríos (1979, 1981, 1985, La Guaira (Naiguatá, Arrecife, Taguao), Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques, P.N. Henri Pittier, Aragua)
8. <i>L. gracilis</i> J.D. Hooker & Harvey	Nova Zelândia, Hawke Bay	Como <i>L. filiformis</i> J.D. Hooker & Harvey, <i>nom. illeg.</i> J. Agardh (1852, La Guaira), Taylor (1976, Territorio Insular Francisco de Miranda), Rodríguez de Ríos (1972, La Guaira, Arrecife, Playa Grande, Península de Paraguaná, Falcón), Almeida (1976, Cayo Sombrero, P.N. Morrocoy, Falcón), Delascio (1978, Carabobo), Lobo & Rodríguez de Ríos (1985, Cayo Sal, P.N. Morrocoy, Falcón), Rodríguez de Ríos (1985, Aragua); Ardito <i>et al.</i> (1995, La Guaira, Taguao), Gómez (1998, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques), García & Gómez (2004, La Guaira), García <i>et al.</i> (2013, La Guaira, Puerto Cruz)
9. <i>L. intricata</i> J.V. Lamouroux	Mar do Caribe (Antilhas)	Rodríguez de Ríos (1965, P.N. Mochima, Sucre), Díaz-Piferrer (1970, P.N. Mochima, Isla Arapo, Anzoátegui, Isla de Margarita, Nueva Esparta, Territorio Insular Francisco de Miranda), Rodríguez de Ríos (1979, P.N. Morrocoy, Falcón, Península de Paraguaná, La Guaira (Arrecife, Chichirivite, Naiguatá), Aragua, Carabobo, Isla de Margarita, Nueva Esparta), Ganesan 1983, Lobo & Rodríguez de Ríos (1985, Cayo Sal, Cayo Muerto, Cayo Peraza, P.N. Morrocoy, Falcón), Vera 2004, Solé <i>et al.</i> 2010, Ardito 2013, Gómez <i>et al.</i> 2017, Betancourt & Barrios 2021
10. <i>L. microcladia</i> Kützing	Mar do Caribe (Índias Ocidentais – Antilhas e Bahamas)	Taylor (1960, 1976), González (1977, La Guaira, Punta de Tarma), Rodríguez de Ríos (1979, P.N. Henri Pittier, Aragua; Carabobo; Isla de Cubagua, Nuova Esparta; La Guaira, La Salina; Sucre), Ganesan (1983), Lobo & Rodríguez de Ríos (1985, Cayo Sal,

		Cayo Muerto, P.N. Morrocoy, Falcón); Vera (2000, La Guaira); Barrios <i>et al.</i> (2003, P.N. Mochina, Sucre); Ardito (2013, Carabobo); Gómez <i>et al.</i> (2017, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques); Barrios-Montilla <i>et al.</i> 2021
11. <i>L. obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Sul da Inglaterra (Hastings, Sussex; Devon)	Taylor (1960, 1976, Territorio Insular Francisco de Miranda, Isla Las Aves; Sucre); Rodríguez de Ríos (1965, P.N. Mochima, Sucre); Rodríguez de Ríos (1972, Cumarebo, Península de Paraguaná, Falcón; La Guaira (Arrecife, Playa Grande); Rodríguez de Ríos (1979, Carabobo; Cayo Muerto, P.N. Morrocoy, Falcón; Isla de Margarita, Isla de Coche, Nuova Esparta; Aragua; Anzoátegui); Gómez (1982, Cayo Borracho, Cayo Sal, P.N. Morrocoy, Falcón); Lobo & Rodríguez de Ríos (1985); Vera (1993, Península de Araya, Sucre); Solé & Vera (1997, Miranda); Vera (2000, La Guaira); Vera (2004, P.N. Morrocoy, Falcón); Ardito (2013, Carabobo); Ficoflora Venezuela, CDCH 2016; Gómez <i>et al.</i> (2017, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques); Betancourt & Barrios (2021); Barrios-Montilla <i>et al.</i> 2021
12. <i>L. natalensis</i> Kyllin	África do Sul, Isipingo Beach, próximo a Durban	García-Soto & Lopez Bautista (2019, Cabo San Roman, Península de Paraguaná, Falcón)
13. <i>Palisada corallopsis</i> (Montagne) Sentfies, M.T.Fujii & Díaz-Larrea	Cuba, Havana	Como <i>Laurencia corallopsis</i> (Montagne) M. Howe (Taylor 1960, 1976, Rodríguez de Ríos, 1979, Península de Paraguaná, Falcón; La Guaira (Arrecife, Tarma); Sucre), Rodríguez de Ríos (1985, Puerto Cumarebo, Península de Paraguaná, Falcón); como <i>P. corallopsis</i> (Ardito 2013, Carabobo)
14. <i>P. flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam	Indonésia	Como <i>Chonsdrophycus flagelliferus</i> (J. Agardh) K.W. Nam (Solé <i>et al.</i> 2010, La Mula, Península de Macanao, Isla de Margarita, Nuova Esparta)
15. <i>P. intermedia</i> (Yamada) K.W. Nam	Japão, Kanagawa Prefecture, Enoshima	Como <i>Laurencia intermedia</i> Yamada (Rodríguez de Ríos & Saito 1982, Rodríguez de Ríos (1985, La Guaira (Arrecife), Península de Paraguaná, Falcón; P.N. Henri Pittier, Aragua; Carabobo); como <i>P. intermedia</i> (Ardito 2013, Carabobo)
16. <i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam	Espanha, Ilhas Canárias, Santa Cruz de Tenerife	Como <i>Laurencia papillosa</i> (C.Agardh) Greville (Taylor 1942, 1960, 1976, Isla Cubagua, Nuova Esparta, Rodríguez (1959, Isla de Margarita, Isla de Coche, Nuova Esparta, Rodríguez de Ríos (1965, 1972, 1979, Península de Paraguaná, P.N. Morrocoy, Falcón; Miranda; La Guaira (Arrecife, La Salina); Sucre, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques; Carabobo; P.N. Henri Pittier, Aragua; Gómez (1982, Cayo Sal, P.N. Morrocoy, Falcón; Ganesan (1983, Anzoátegui). Lobo & Rodríguez de Ríos (1985, Cayo Muerto, Cayo Peraza, P.N. Morrocoy, Falcón), Ardito <i>et al.</i> 1995, Vera (1996, La Guaira (Taguao, El Cusuy), Vera 2000, 2004, Solé & Vera 1997, Gómez 1998, Gil

		2001); como <i>Chndrophycus papillosus</i> (C. Agardh) Garbary & J.T. Harper (Ortiz 2007, López <i>et al.</i> 2009, Solé & Barrios 2009, Ardito & García 2009); como <i>Palisada papillosa</i> (Solé <i>et al.</i> 2010, Solé & Pardo 2010, Guilarte <i>et al.</i> 2012); como <i>Palisada perforata</i> (Ardito 2013, Carabobo), Ficoflora Venezuela, CDCH 2016, Gómez <i>et al.</i> (2017, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques); Costilla 2019, Barrios-Montilla <i>et al.</i> 2021
17. <i>Osmundea pinnatifida</i> (Hudson) Stackhouse	Inglaterra, Essex, Harwich	Como <i>Laurencia pinnatifida</i> (Hudson) J.V. Lamouroux (Díaz-Pifferrer 1970, Territorio Insular Francisco de Miranda, Isla La Blanquilla, La Guaira, Catia La Mar, Taylor 1976, Ganesan 1976, Nueva Esparta)
18. <i>O. oederi</i> (Gunnerus) G.Furnari	Noruega, Stavanger	Como <i>Laurencia bolivarii</i> N. Rodríguez de Ríos (1979, 1981, 1985, P.N. Henri Pittier, Aragua; Isla Coche, Nuova Esparta; La Guaira (Arrecife, Naiguatá, Playa Grande, Oricao); Carabobo, Ensenada de Jurelito); como <i>Osmundea bolivarii</i> (N. Rodríguez-Ríos) M. García-Ortiz (Vera 2000, La Guaira (Catia La Mar, Los Caracas, Osmá), García & Gómez 2004, García 2006, Ardito (2013, Carabobo), García <i>et al.</i> 2013
19. <i>Yuzurua poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) Martin-Lescanne	República Dominicana, San Domingos	Como <i>Laurencia poiteaui</i> ['poitei'] (Taylor 1942, 1960, Ganesan (1983, Territorio Insular Francisco de Miranda, Isla La Tortuga); como <i>Yuzurua poiteaui</i> Ardito (2013, Carabobo), Gómez <i>et al.</i> (2017, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques), Barrios-Montilla <i>et al.</i> (2021, Isla de Cubagua, Nueva Esparta)
20. <i>Yuzurua poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i> (Harvey) M.J.Wynne	EUA, Flórida, Key West	Como <i>Laurencia gemmifera</i> Harvey (Rodríguez de Ríos 1965, Bahía de Mochima, P.N. Mochima, Sucre; Hammer & Gassner (1967, Territorio Insular Francisco de Miranda, P.N. Archipiélago Los Roques)

1.5 marcadores moleculares utilizados no complexo *Laurencia*

Diante da grande diversidade e distribuição geográfica do grupo somados com a dificuldade envolvendo a sua taxonomia, a análise molecular vem sendo uma ferramenta imprescindível para delimitar táxons e inferir suas relações filogenéticas.

Estudos moleculares dentro do complexo *Laurencia* foram baseados principalmente em sequências do gene que codifica a subunidade grande (*rbcL*) da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) (Nam *et al.* 2000,

McIvor *et al.* 2002, Abe *et al.* 2006, Fujii *et al.* 2006, Díaz-Larrea *et al.* 2007, Cassano *et al.* 2009, 2012a, b, c, Gil-Rodríguez *et al.* 2009, 2010, Martin-Lescanne *et al.* 2010, Rocha-Jorge *et al.* 2010, 2013, Sentíes *et al.* 2011, 2015, 2016, Metti *et al.* 2013, 2015, Collado-Vides *et al.* 2014, 2017, Francis *et al.* 2017). O COI-5P (região 5' do gene mitocondrial *cox1* que codifica a subunidade 1 da citocromo c oxidase) participa da via metabólica de transporte de elétrons, conferindo a ele um caráter universal e robusto com ampla taxa de cobertura do gene, e foi testado como DNA *Barcode* para Rhodophyta por Saunders (2005). Atualmente, está bem estabelecido como ferramenta apropriada para a identificação de algas vermelhas em nível específico (Robba *et al.* 2006, Saunders 2008, Sherwood *et al.* 2010, Milstein & Saunders 2012, Costa *et al.* 2012, Lam *et al.* 2016).

Comparativamente com o *rbcL*, o COI-5P ainda é menos empregado para delimitação de espécies do complexo *Laurencia* (Kurihara *et al.* 2010, Sherwood *et al.* 2010, Machín-Sánchez *et al.* 2014, 2016, Collado-Vides *et al.* 2018, Cassano *et al.* 2019a, b, 2020, Sentíes *et al.* 2019, Serio *et al.* 2020, Hughey & Miller 2021, Popolizio *et al.* 2022). O COI-5P é geralmente preferido para análises filogeográficas, enquanto o *rbcL* é preferido para inferir filogenia uma vez que é geralmente mais conservado (Draisma *et al.* 2001). Os dados gerados por essa técnica possuem ampla aplicação, com grande utilidade em levantamentos de biodiversidade, filogeografia, resolução de estrutura de populações e em conservação de espécies (Yang *et al.* 2007). Somados ao *rbcL* e COI-5P, Rousseau *et al.* (2017), empregaram também o LSU rDNA (28S) que codifica o RNA da subunidade grande em análises isoladas e concatenadas com os três marcadores para o complexo *Laurencia* e Popolizio *et al.* (2022) usaram o ITS nrDNA (espaçador interno transcrito) para comparar distâncias de sequências intraespecíficas vs. interespecíficas em três táxons de *Laurencia*, *L. catarinensis* Cordeiro-Marino & M.T. Fujii, *L. dendroidea* e *L. microcladia*, cujos limites das espécies não foram claramente resolvidos com COI-5P e *rbcL*.

Estudos filogenômicos para o complexo *Laurencia* são incipientes. Díaz-Tapia *et al.* (2017) constitui o único trabalho de filogenômica realizado até o momento com base no genoma do cloroplasto para a família Rhodomelaceae, a partir do qual a classificação da família foi reavaliada. Dos 55 genomas sequenciados, apenas quatro táxons são do complexo *Laurencia*: *Laurencia snackeyi* (Weber-van Bosse) M. Masuda, *Laurenciella marilzae* (Gil-Rodríguez *et al.*) Gil-Rodríguez *et al.*, *Palisada* sp. e *Laurencieae* sp. Além disso, para se obter uma árvore com maior diversidade de espécies, Díaz-Tapia *et al.* (2017) fizeram uma análise multigênica com os marcadores *rbcL*, SSU rDNA (18S), que

codifica o RNA da subunidade pequena, e *cox1*, incluindo 75 táxons do complexo *Laurencia* (especificados como tribo Laurencieae). Contudo, os três genes estavam disponíveis apenas para os quatro táxons cujos genomas foram sequenciados, gerando uma quantidade substancial de dados faltantes na matriz total (45%).

Os primeiros genomas organelares completos sequenciados a partir do isótipo de *Osmundea sinicola* (Setchell & N.L. Gardner) K.W. Nam, coletado em 1917, foram obtidos por Hughey & Miller (2021). Os autores ainda tiveram sucesso no sequenciamento do *rbcL* e COI-5P do isótipo de *Osmundea crispa* (Hollenberg) K.W. Nam, coletado em 1939, e do holótipo de *Laurencia scrippsensis* E.Y. Dawson, coletado em 1943, confirmando que esta última é sinônimo heterotípico de *O. crispa*. Hughey & Miller (2021) reforçaram que pequenas quantidades de materiais-tipo, historicamente significativos, podem ser viáveis para análises genéticas, representando a fonte mais confiável e conclusiva atualmente para a aplicação correta de um nome.

2 JUSTIFICATIVA

Importantes estudos prévios realizados nas últimas décadas têm demonstrado a grande diversidade que compreende o complexo *Laurencia*, no entanto, a dificuldade no que tange a identificação de suas espécies é patente em diversas partes do mundo (Masuda & Abe 1993), devido principalmente a sua grande plasticidade morfológica, espécies com limites mal definidos e a dificuldade na observação de caracteres diagnósticos (Sentfies & Fujii 2002, Cassano *et al.* 2012b). Diante desse cenário a taxonomia do grupo tem sofrido mudanças substanciais nos últimos anos, especialmente pelo emprego de marcadores moleculares.

Como parte de um esforço internacional, Brasil, México, Espanha, Portugal, EUA e Venezuela vêm desenvolvendo projetos em colaboração visando compreender a taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia* no Atlântico tropical e subtropical. A área de interesse específica deste estudo - a costa venezuelana - representa uma lacuna no entendimento da diversidade de espécies do complexo *Laurencia* no Oceano Atlântico, assim como sua distribuição geográfica e afinidades filogenéticas. Com exceção de dois artigos recentemente publicados que geraram sequências de *rbcL* e COI-5P para poucas espécies da Venezuela, *Laurencia dendroidea*, *L. natalensis* e *Palisada perforata* (García-Soto & Lopez Bautista 2019) e *L. digitata* e *Chondrophyucus anabeliae* (Cassano *et al.* 2020), muito pouco foi feito sobre a taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia*

na Venezuela, e sua diversidade está provavelmente subestimada. A redefinição dos critérios taxonômicos, as citações equivocadas e nomes mal aplicados para espécies do complexo em diferentes partes do mundo e o uso imprescindível de marcadores moleculares para delimitação específica e filogenia, exigem uma ampla revisão desse complexo na Venezuela, com estudos morfológicos detalhados dos táxons, aliados a estudos moleculares, gerando um estudo sistemático com um conjunto de dados inéditos para o complexo *Laurencia* na região.

Espera-se com esse estudo identificar e delimitar as espécies ocorrentes na Venezuela, aumentando a representatividade do complexo *Laurencia* no Atlântico e inferir hipóteses filogenéticas, fornecendo valiosos subsídios para abordagens comparativas sobre o conhecimento da biodiversidade desse complexo em regiões tropicais e subtropicais do mundo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a diversidade das espécies do complexo *Laurencia* na costa da Venezuela por meio de estudos morfológicos e moleculares combinados, a fim de contribuir para o conhecimento da flora desse grupo no Atlântico Ocidental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Utilizar ferramentas morfológicas e moleculares no estudo da taxonomia das espécies do complexo *Laurencia* na costa venezuelana.
2. Revisar a diversidade de espécies do complexo *Laurencia* gerando e comparando sequências do gene plastidial *rbcL* e do mitocondrial do tipo DNA *barcode* COI-5P para obter inferências filogenéticas e a correta identificação de táxons.
3. Gerar uma melhor circunscrição específica usando diferentes métodos de delimitação de espécies contribuindo para revelar a diversidade desse complexo na Venezuela e, conseqüentemente, no Oceano Atlântico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta

A costa venezuelana cobre aproximadamente uma extensão de 4000 km, distribuindo-se ao longo do Mar do Caribe (que cobre a maior parte do litoral) e do Oceano Atlântico Norte. Sapais arenosos, praias, falésias, planícies deltaicas, lagoas costeiras, estuários, ilhas-barreira e baías são alguns dos ambientes marcantes da região (Perdomo *et al.* 1996). O clima predominante na costa venezuelana é classificado como quente e seco (23 a 25,9°C e 300 a 699 mm/ano) (Silva León 2010). O relevo do país é bastante variado, e se caracteriza como tendo picos da Cordilheira dos Andes (oeste), planícies deltaicas (leste), planícies (centro-sul), Cordilheira da Costa (norte) e planaltos (sul) (Gargano 2014).

As coletas foram realizadas em diferentes pontos do litoral da Venezuela, em 2015, da região entremarés até a região sublitorânea rasa nos estados Falcón (Parque Nacional Morrocoy: Punta Brava, Cayo Muerto, Cayo Sal; Puerto Escondido, Tumatey, Puerto Cumarebo), Vargas (Litoral Central, Los Caracas) Nueva Esparta (Isla Margarita, Bahía de Pampatar), Miranda (Playa Corrales) (Figura 1, Tabela 3). Amostras adicionais coletadas em 2011 e 2014 no estado Vargas (Puerto Azul, Chichiriviche de La Costa, Naiguatá, Tarma, Taguao) foram também incluídas nas análises, totalizando 76 amostras (Figura 1, Tabela 3). O material foi triado no próprio local de coleta ou, quando possível, nos laboratórios da Universidad Central de Venezuela e da Universidad de Carabobo, Valencia, sob microscópio estereoscópico, para remoção das algas epífitas. Quando possível, exsiccatas livres de formol foram confeccionadas ainda em campo visando a sua disponibilidade para análises moleculares futuras.

Tabela 3. Lista dos locais de coleta visitados na costa venezuelana com seus respectivos dados de amostragem.

Estado	Local	Número de amostras	Data	Coletor
Vargas (La Guaira)	Chichiriviche de La Costa 10°33'01"N 67°14'27"W	18	28/06/2011 21/07/2014	A. Brito, B. Vera
	Tarma 10°33'43"N 67°08'37"W	2	15/05/2015	M. García
	Puerto Azul 10°37' 19"N 66°44' 50"W	9	17/06/2014	A. Brito
	Taguao 10°34'37"N 67°06'07"W	22	11/08/2014	A. Brito
	Los Caracas 10°37'40"N 66°34' 17"W	3	26/052011 28/06/2011 15/05/2015	B. Vera, J. Linares
	Naiguatá 10°37'02"N 66°44'21"W	3	28/06/2011	B. Vera, C. Moreno
Nueva Esparta	Bahia de Pampatar 10°59'48"N 63°47'30"W	1	08/05/2015	A.Velásquez, M. Duque
	Isla de Margarita 10°56'35"N 64°09'39"W	1	08/05/2015	A.Velásquez, M. Duque
Falcón	Punta Brava 10°47'42"N 68°17'51"W	2	18/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentíes, M. Cordero, Y. García, J. Escobar
	Cayo Muerto 10°55'46"N 68°16'38"W	5	19/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentíes, M. Cordero, Y. García, J. Escobar
	Cayo Sal 10°56'00"N 68°15'00"W	2	19/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentíes, M. Cordero, Y. García, J. Escobar

	Puerto Escondido 12 °73'44"N 69 °63'14"W	2	20/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentías, M. Cordero, Y. García, J. Escobar
	Puerto Cumarebo 11°29'45"N 69°20'29"W	2	20/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentías, M. Cordero, Y. García, J. Escobar
	Tumatey 12°10'34"N 69°56'15"W	2	29/03/2011 20/05/2015	S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentías, M. Cordero, Y. García, J. Escobar
Miranda	Playa Corrales 10°36'29,09"N 66°09'49,76"W	2	20/05/2015	C. Pereira, V. Hernández

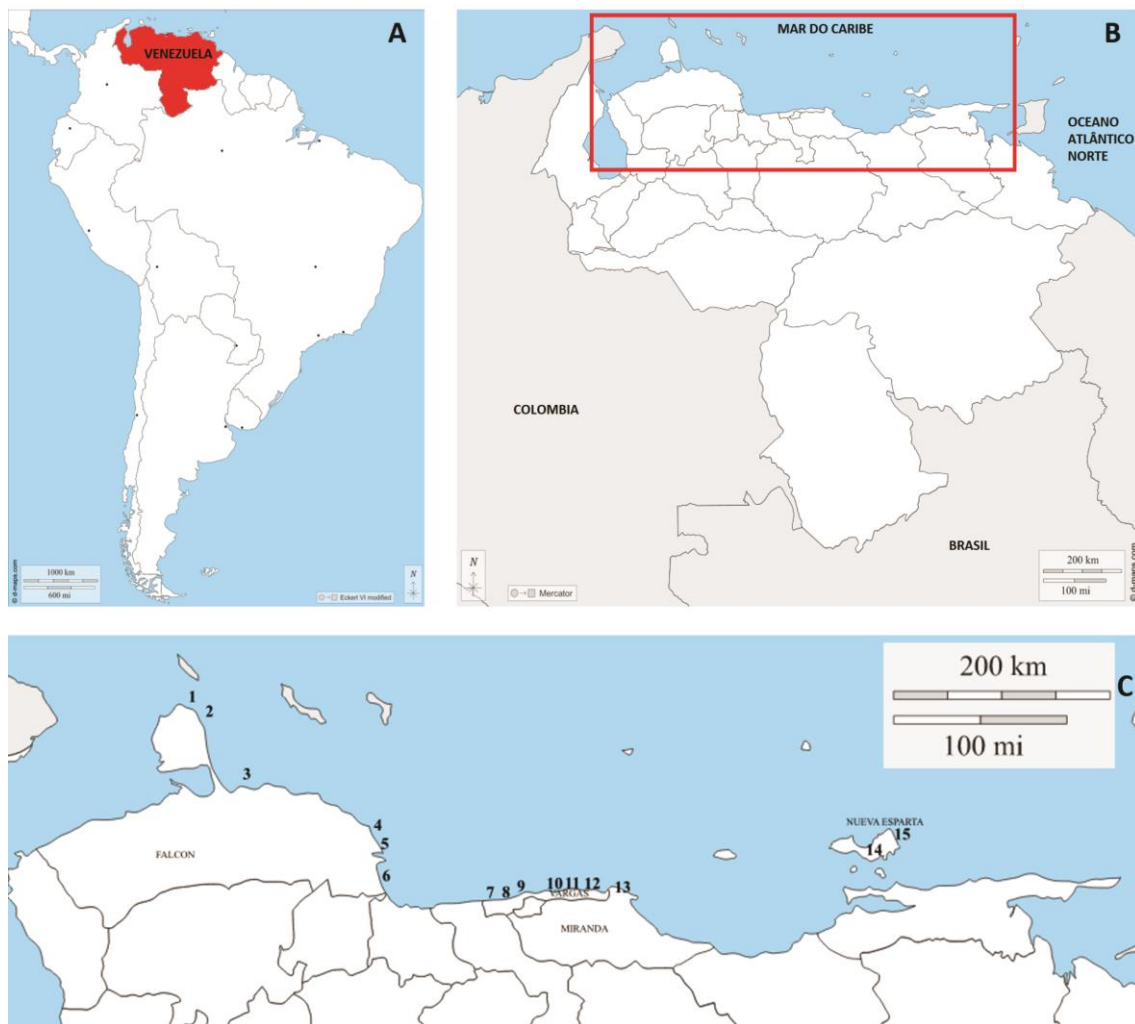


Figura 1. Mapas da América do Sul e Venezuela , adaptados de d-maps.com. A: Mapa da América do Sul, com a Venezuela destacada em vermelho. **B:** Venezuela e suas fronteiras com Colômbia e Brasil, e área de coleta destacada. **C:** Pontos de coleta ao longo da costa venezuelana: (1) Puerto Escondido; (2) Tumatéy; (3) Puerto Cumarebo; (4) Cayo Sal; (5) Cayo Muerto; (6) Punta Brava; (7) Chichiriviche de La Costa; (8) Tarma; (9) Taguao; (10) Puerto Azul; (11) Naiguatá; (12) Los Caracas; (13) Playa Los Corrales; (14) Isla de Margarita; (15) Bahía de Pampatar.



Figura 2. Praias visitadas para as coletas do material estudado. **A, B:** Vista geral da ilha de Cayo Muerto, Falcón. **C, D:** Praia de Puerto Escondido, Falcón.

4.2 Estudo molecular

Regiões apicais, normalmente mais livres de epífitas, foram cortadas, secas em papel toalha e desidratadas em sílica gel. O material foi acondicionado em sacos plásticos e mantido em temperatura ambiente para o estudo molecular; o restante do talo foi destinado ao estudo morfológico e herborização.

4.2.1 Marcadores moleculares

Neste estudo, foram utilizados os marcadores plastidial *rbcL* e o mitocondrial COI-5P. O *rbcL* é amplamente aceito como uma região de alta resolução filogenética ao nível de gênero e espécie, que corresponde aos nós mais recentes das árvores; é um gene longo (1467 pb) e não apresenta indels, o que evita ambiguidades no alinhamento das sequências e facilita o seu uso em análises filogenéticas (Freshwater & Rueness 1994, Freshwater *et al.* 1994, Lin *et al.* 2001, Fredericq *et al.* 2003).

O COI-5P é um segmento de DNA relativamente curto (664 pb), não contém íntrons que podem complicar a amplificação usando a técnica de PCR e apresenta poucos indels (Stoeckle 2003, Saunders 2005). O COI-5P foi empregado pela primeira vez em algas vermelhas por Saunders (2005) e sua eficiência em discriminar espécies proximamente relacionadas, detectar espécies crípticas, auxiliar na compreensão da plasticidade fenotípica e distribuição geográfica de espécies têm sido confirmada para diferentes grupos de Rhodophyta (Clarkston & Saunders 2010, Costa *et al.* 2012, Milstein *et al.* 2012, Milstein & Saunders 2012, Nauer *et al.* 2014, 2015, 2019, Jesus *et al.* 2016). A sua eficiência na identificação de espécies do complexo *Laurencia* já foi amplamente comprovada (Cassano 2009, Machín-Sánchez *et al.* 2014, 2016, Collado-Vides *et al.* 2018, Cassano *et al.* 2019a, b, 2020, Senties *et al.* 2019, Serio *et al.* 2020, Hughey & Miller 2021).

4.2.2 Extração de DNA

O material seco foi macerado em nitrogênio líquido. As extrações de ácidos nucleicos foram feitas utilizando-se o kit de extração de tecidos vegetais “DNeasy Plant Mini-Kit” (Qiagen Santa Clarita, EUA), de acordo com o protocolo do fornecedor. Após a extração, o DNA total foi submetido à eletroforese em gel de agarose 0,7%, em tampão tris-borato-EDTA (TBE), corado com gel red para averiguação da qualidade e quantidade de DNA extraído (Sambrook *et al.* 1989). Ao final as amostras de DNA foram armazenadas a -20°C.

4.2.3 Amplificação por PCR (Reação em cadeia da polimerase)

O DNA extraído foi utilizado para a amplificação da sequência alvo através da "Polymerase Chain Reaction" ou PCR (Sambrook *et al.* 1989). As condições de amplificação para um volume final de 25µL foram: 14µL de água miliQ, 5µL de tampão, 2,875µL de MgCl₂, 0,5µL de dNTP, 0,5µL de cada primer, 0,5µL de BSA e 0,125µL de *Taq* Polimerase, e 1µL de cada amostra de DNA total. As reações de PCR foram feitas nos termocicladores MiniCycler (MJ Research) e TC-512 Thermal Cycler (Techne Barlworld Scientific) nas seguintes condições (Tabela 4):

Tabela 4. Ciclos de amplificação de DNA utilizados neste estudo para os marcadores *rbcL* e COI-5P.

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

Os *primers* específicos utilizados para cada marcador são mostrados na Tabela 5. Após aplicação da PCR, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (0,7%) com marcador de tamanho (1 Kb DNA Ladder - Gibco BRL) para verificar os tamanhos dos fragmentos amplificados. Para a purificação, foi utilizado o protocolo de glicogênio, cujas condições foram: 3 μ L NaO Ac 3M pH=5,2, 0,6 μ L de glicogênio e 50 μ L de etanol 100% por amostra. Em seguida, as mesmas foram quantificadas utilizando-se 1 μ L da amostra do DNA purificado para a análise da concentração de ácido nucleico (DNA/ μ L), através do equipamento NanoDrop 2000 – Spectrophotometer (Wilmington, DE, EUA) para, então, serem encaminhadas para sequenciamento. Após a obtenção dos marcadores moleculares, as amostras de DNA foram catalogadas, precipitadas, secas e estocadas a - 80°C formando um banco que ficará disponível para outros estudos.

Tabela 5. Relação de *primers* direto (F) e reverso (R) para os marcadores utilizados (*rbcL* e COI-5P) na amplificação por PCR e no sequenciamento.

Primer	Gene	Sequência (5'→3')	Referência
<i>Frbcl</i> Start	5'-ATG TCT AAC TCT GTA GAA G-3'	inicial	Freshwater & Rueness (1994)
R 753	5'-GCT CTT TCA TAC ATA TCT TCC-3'	773	Freshwater & Rueness (1994)
R753a	5'-GCT CTT TCR TAC ATA TCY TC-3' (r=a/g, y=c/t)	773	Cassano (2009)
R492a	5'-CGT CAA AAT TTR TCC ATR CG-3'	511	Cassano (2009)
F753	5'-GGA AGA TAT GTA TGA AAG AGC-3'	753	Freshwater & Rueness (1994)

F753a	5'-GAR GAT ATG TAY GAA AGA GC-3'	754	Cassano (2009)
F492	5'-CGT ATG GAT AAA TTT GGT CG-3'	492	Freshwater & Rueness (1994)
F492a	5'-CGY ATG GAY AAA TTT GGA CG-3'	492	Cassano (2009)
R1150a	5'-GCA TTT GRC CRC ART GAA TAC C-3'	1171	Cassano (2009)
F993	5'-GGT ACT GTT GTA GGT AAA TTW GAA GG-3' (w=a/t)	993	Freshwater & Rueness (1994)
<i>RrbcS</i> Start	5'-GTT CTT GTG TTA ATC TCA C-3'	Início do <i>rbcS</i>	Freshwater & Rueness (1994)
GAZF1	5'-TCA ACA AAT CAT AAA GAT ATT GG-3'	1	Saunders (2005)
GAZR1	5'-ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAY CA-3'	710	Saunders (2005)
GWSFn	5'-TCA ACA AAT CAY AAA GAT ATY GG-3'	1	Le Gall & Saunders (2010)
GWSRn	5'-GGR TTC CRA ARA AYA CRAA -3'	710	Le Gall & Saunders (2010)

4.2.4 Sequenciamento de DNA

O sequenciamento dos marcadores moleculares a partir de PCR purificado e quantificado foi realizado no sequenciador automático (ABI PRISM 3100) usando-se o kit “Cycle Sequencing, Big-Dye Terminator” (Applied Biosystems, Foster City, EUA) utilizando-se os mesmos *primers* da PCR. As sequências obtidas foram identificadas e comparadas com as sequências disponíveis no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), com o uso do programa BLAST (Altschul *et al.* 1997). Após a identificação, as sequências foram alinhadas manualmente a partir das sequências obtidas nas direções direta e reversa no programa BioEdit (Hall 1999) e foram geradas sequências-consenso para cada táxon. Pontos de divergência foram analisados através da inspeção dos eletroferogramas.

4.2.5 Matrizes

Para a construção das matrizes, alinhamos as sequências-consenso manualmente no programa BioEdit. Foram geradas uma matriz geral para cada marcador com os *ingroups* (sequências do complexo *Laurencia* geradas nesse estudo e as disponíveis no GenBank) e as sequências denominadas *outgroups* (ou grupo externo) que polarizaram as relações filogenéticas dentro do *ingroup* (no nosso caso, espécies do gênero *Chondria* C. Agardh, representante do grupo taxonômico mais próximo do *ingroup*, tendo como base consultas da inferência filogenética do complexo em trabalhos anteriores). Matrizes menores também foram geradas a fim de estudar a divergência intragenérica,

interespecífica e intraespecífica, nessas, o início e/ou o final de cada matriz foram excluídos para que todas as sequências tivessem o mesmo tamanho, com base na sequência menor da matriz.

4.2.6 Análises de agrupamento

Enquanto o objetivo da inferência filogenética é investigar as possíveis relações entre os gêneros e espécies do complexo, o objetivo das análises de agrupamento é identificar a diversidade de espécies dentro do conjunto amostral utilizado. Essa identificação foi realizada através da formação das unidades taxonômicas operacionais baseadas nos dados moleculares (ou MOTUs) e a sustentação desses agrupamentos frente aos diferentes métodos utilizados, listados a seguir.

Quatro métodos de delimitação de espécies (*Species delimitation methods* - SDM) foram aplicados aos alinhamentos de COI-5P: *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD; Puillandre *et al.* 2012a), *Assemble Species by Automatic Partitioning* (ASAP; Puillandre *et al.* 2020), *Generalized Mixed Yule Coalescent* (GMYC; Fujisawa & Barraclough 2013) e *Poisson Tree Process* (PTP; Zhang *et al.* 2013). Foram montadas matrizes individualizadas por gênero de estudo (*Laurencia*, *Chondrophycus* e *Palisada*) para obter resultados mais apurados, uma vez que o *barcode gap* varia de acordo com cada gênero do complexo. Os resultados de cada uma das análises foram, então, comparados e utilizados para avaliação.

4.2.6.1 *Automatic Barcode Gap Discovery*, ABGD (Puillandre *et al.* 2012)

Este método infere o número de grupos presentes (como hipótese primária de espécies, *primary species hypothesis* - PSH), através da verificação do barcoding gap das diferenças par-a-par para um determinado conjunto de dados.

Magnitude do barcoding gap = Diver. interespecífica mínima / Diver. intraespecífica máxima

Como o ABGD identifica uma partição de espécies para cada valor de P definido a priori, várias partições podem ser propostas, refletindo a incerteza decorrente dos dados e incentivando o usuário a avaliar a relevância das partições do ABGD à luz de outros

dados. No entanto, o ABGD não fornece uma pontuação para cada partição que ajude o usuário a identificar a(s) “melhor(es)” partição(ões), e isso provavelmente constitui a principal desvantagem do ABGD.

Para cada valor de P definido a priori, é gerada uma partição inicial, e uma partição recursiva. Esta última, suaviza a premissa da partição inicial de que um único barcode gap é capaz de segregar os seus dados.

As análises de ABGD foram executadas nos alinhamentos completos usando configuração padrão de seu servidor online (<http://www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html>). Foram utilizados os seguintes parâmetros: distância intraespecífica mínima de 0,001 (pmin), distância intraespecífica máxima de 0,1 (pmax), 10 etapas e amplitude de gap relativa de 1,5, distâncias p. Abordagens de partição inicial e recursiva ABGD foram consideradas.

4.2.6.2 *Assemble Species by Automatic Partitioning, ASAP (Puillandre et al. 2020)*

ASAP é a implementação de um algoritmo de agrupamento hierárquico que usa apenas distâncias genéticas pareadas, evitando a carga computacional da reconstrução filogenética. É importante ressaltar que o ASAP propõe partições de espécies classificadas por um novo sistema de pontuação, que não usa uma visão biológica prévia da diversidade intraespecífica: o *asap-score*, que é uma média entre dois valores: *p*-valor (menor tem rank 1) e a janela de abertura do gap (maior tem rank 1), quanto menor a pontuação, melhor a partição.

As análises de ASAP foram executadas nos alinhamentos completos usando configuração padrão de seu servidor online (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/asapweb.html>). Foram utilizados os seguintes parâmetros: distâncias p como modelo para computar as distâncias, grupos foram divididos abaixo da probabilidade de 0,01, e as 10 melhores pontuações foram salvas.

4.2.6.3 *Generalized Mixed Yule Coalescent, GMYC (Fujisawa & Barraclough 2013)*

Este método usa uma árvore filogenética ultramétrica como entrada e estima taxas de eventos de ramificação para inferir qual parte da árvore provavelmente segue um modelo de especiação e qual parte segue um modelo coalescente. A partição de espécies

é encontrada maximizando a probabilidade de transição entre essas duas taxas de ramificação, em tempo absoluto.

O limiar único gerado por esse método assume que todos os eventos de especiação são mais antigos do que os eventos de coalescência, enquanto o limiar múltiplo suaviza essa premissa.

Para as análises GMYC, a árvore ultramétrica bayesiana foi estimada empregando o modelo de árvore disponível no BEAST 2.6.0 (Bouckaert et al. 2019): o modelo de especiação de nascimento e morte (BD). A árvore ultramétrica foi construída seguindo os mesmos parâmetros MCMC que a árvore Bayesiana construída para análise filogenética descrita acima. As abordagens de limite único e múltiplo do GMYC foram executadas usando as divisões de pacotes no R (R Core Team 2021).

4.2.6.4 Poisson Tree Process, PTP (Zhang et al. 2013)

Este método leva em conta o comprimento dos ramos (o número de substituições) para a estimativa do limite entre as espécies. Divergindo do GMYC por não exigir uma árvore filogenética ultramétrica como entrada.

A análise PTP usou uma árvore ML construída conforme descrito abaixo, mas excluindo sequências de grupos externos. O PTP foi realizado com a implementação online (<http://species.h-its.org>) sob os seguintes parâmetros: 100.000 gerações MCMC, thinning = 100 e burn-in = 0,1. Apenas a abordagem de máxima verossimilhança PTP foi considerada.

4.2.7 Delimitação das espécies

As partições propostas pelos quatro métodos às vezes diferem, isso levou alguns autores a propor que todos os quatro métodos (entre outros eventualmente) deveriam ser aplicados em conjunto e comparados (Ducasse *et al.* 2020); e embora existam várias exceções, ABGD em particular, e PTP em menor grau, tendem a agrupar mais espécies do que GMYC (Pentinsaari *et al.* 2017). Em resumo, usamos 6 variações de métodos de delimitação de espécies: dois ABGD (inicial e recursivo), um PTP (versão de máxima verossimilhança), dois GMYC (abordagens de limiar único e múltiplo) e um ASAP (menor ASAP-score). Comparamos as hipóteses primárias de delimitação de espécie (PSHs) geradas por cada método, e procuramos definir uma hipótese secundária de espécie (SSH) baseada no consenso entre os diferentes métodos. A decisão final quanto

ao número de espécies e consequente confirmação ou não de determinada SSH levou em consideração a comparação dos resultados encontrados para os dois marcadores (*rbcL* e COI-SP), caracteres morfo-anatômicos, descrições morfológicas dos topótipos e os métodos de delimitação propostos aqui.

4.2.8 Análises filogenéticas

As árvores filogenéticas foram construídas a partir dos alinhamentos das sequências obtidas neste estudo e das sequências disponíveis no GenBank (Tabelas 6 e 7). Para os dois marcadores foram construídas árvores de agrupamento utilizando o método de distância (Neighbour-joining, NJ) com o uso do programa PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) com 2000 réplicas de bootstrap. Para as análises filogenéticas, árvores foram construídas usando os métodos de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood*, ML) e inferência Bayesiana (BI), cujo modelo de evolução foi selecionado usando jModeltest no CIPRES Science Gateway v3.3 (Miller *et al.* 2010) sob o Akaike information criterion (AIC). Foram realizadas análises de ML usando-se o servidor online IQTREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) com 2000 réplicas de bootstrap. Árvores de BI foram construídas usando-se o BEAST v1.8.4 (Suchard *et al.* 2018). Quatro cadeias de MCMC foram realizadas com 100.000.000 gerações, com uma árvore amostrada a cada 1000 gerações. Os primeiros 10% das árvores foram descartados como “burn in”, e uma árvore de consenso da regra da maioria de 50% foi determinada a partir das árvores restantes.

Em todas as análises os gaps foram considerados como dados ausentes e o modelo evolutivo de substituição de nucleotídeos selecionado foi o GTR+G+I, onde se assume o modelo Geral de Reversão ao longo do Tempo com uma proporção de sítios invariáveis (I) e distribuição gamma (G) para acomodar as diferentes taxas para sítios variáveis. Os valores de divergência intergenéricos, inter- e intraespecíficos do *rbcL* e do COI-5P foram calculados usando distância ‘p’ não corrigida no PAUP.

Tabela 6. Lista de sequências de COI-5P obtidas do GenBank e usadas para o enriquecimento das análises moleculares deste estudo.

Código do GenBank	Táxon	Local de coleta	Referências
KU564345	<i>Chondria baileyana</i>	Canadá: Nova Escócia, Pomquet (far on Monks Head Road)	Savoie & Saunders 2016
KX258829	<i>Laurenciella marilzae</i>	Croácia: Scedro	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KF492769	<i>Ll. marilzae</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF492762	<i>Ll. marilzae</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Lanzarote, Pechigueras	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF270693	<i>Ll. marilzae</i>	Brasil: São Paulo, Santos, Parque Estadual Marinho Laje de Santos, Parcel do Sul	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF492765	<i>Ll. marilzae</i>	Portugal: Açores, São Miguel, Cerco da Caloura-Bahia	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
MG004176	<i>Ll mayaimii</i>	EUA: Flórida, Biscayne Bay, Deering Estate	Collado-Vides <i>et al.</i> 2018
MG004179	<i>Ll. namii</i> (as <i>Laurenciella</i> sp.)	EUA: Flórida, Key Biscayne, Crandon Park	Collado-Vides <i>et al.</i> 2018
OK209886	<i>Ll. namii</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
KF492772	<i>Palisada flagellifera</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
OK209892	<i>P. flagellifera</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
KF492773	<i>Palisada perforata</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
MH388710	<i>P. perforata</i>	Venezuela: Falcón, Playa Buchuacos	Garcia-Soto & Lopez Bautista 2019
OK209891	<i>P. perforata</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
MG030784	<i>Palisada tenerrima</i>	Tunísia: Kerkennah	Manghisi <i>et al.</i> 2019
GU223895	<i>Palisada parvipapillata</i>	EUA: Oahu	Kurihara <i>et al.</i> 2010
HQ422768	<i>Palisada crustiformans</i> (como <i>Laurencia crustiformans</i>)	EUA: Hawaii	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422794	<i>Palisada yamadana</i>	EUA: Hawaii	Sherwood <i>et al.</i> 2010
KX258843	<i>Yuzurua</i> sp.	Guadalupe: Antilhas, Caribe, Chenal ilet Colas, Grand Cul-de-Sac Marin	Rousseau <i>et al.</i> 2017
GU223887	<i>Laurencia</i> “ <i>majuscula</i> ”	EUA: Molokai	Kurihara <i>et al.</i> 2010
MT822859	<i>Laurencia dendroidea</i>	Austrália: Austrália Ocidental, Little Turtle	Serio <i>et al.</i> 2020

MT822858	<i>L. dendroidea</i>	Australia: NSW, Arrawarra headland	Serio <i>et al.</i> 2020
MT822857	<i>L. dendroidea</i>	Austrália: Ilha Norfolk, Little Organ off	Serio <i>et al.</i> 2020
KF492728	<i>L. dendroidea</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Lanzarote, Pechiguerras	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF492727	<i>L. dendroidea</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, El Pris	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
MH388711	<i>L. dendroidea</i>	Venezuela: Falcon, Playa Buchuacos	García-Soto & Lopez Bautista 2019
OK209900	<i>L. dendroidea</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
LDBA	<i>L. dendroidea</i>	Brasil: Bahia, Lauro de Freitas, Praia Vilas do Atlântico	V. Cassano (não publicado)
LarbRasa	<i>L. dendroidea</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Buzios, Praia Rasa	V. Cassano
LDAngra	<i>L. dendroidea</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Angra dos Reis	V. Cassano
KF492757	<i>Laurencia viridis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Fuerteventura, El Cotillo	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KX258828	<i>Laurencia obtusa</i>	França: Languedoc-Roussillon, Pirineus Orientais, Cap Béar, Banyuls-sur-Mer	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KF492746	<i>Laurencia pyramidalis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Puerto de La Cruz	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF492751	<i>L. pyramidalis</i>	Portugal: Açores, São Miguel, Mosteiros	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KF492756	<i>L. pyramidalis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Fuerteventura, Garcey	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
KM254466	<i>Laurencia pacifica</i>	EUA: Califórnia, Stillwater Cove, Pebble Beach	Saunders 2014
MK182534	<i>Laurencia mutueae</i>	Mexico: Acapulco, La Roqueta	Sentíes <i>et al.</i> 2019
MH704455	<i>Laurencia longiramea</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia Rasa	Cassano <i>et al.</i> 2019
HQ423046	<i>Laurencia brachyclados</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422984	<i>Laurencia galtsoffi</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
GU223874	<i>Laurencia nipponica</i>	Rússia: Sakhalin	Kurihara <i>et al.</i> 2010
KM254876	<i>Laurencia saitoi</i>	EUA: Califórnia, McAbee Beach, Monterey	Saunders 2014
MH388707	<i>Laurencia natalensis</i>	Venezuela: Falcón, Cabo San Roman	García-Soto & Lopez Bautista 2019
MH388715	<i>L. natalensis</i>	Venezuela: Falcón, Cabo San Roman	García-Soto & Lopez Bautista 2019
MH388736	<i>L. natalensis</i>	Africa do Sul: Natal, Reunion Rocks, Isipingo	García-Soto, 2019
MT996225	<i>L. natalensis</i>	Índia	Kundu, P & Bast, F. 2010 (não publicado)
LCPV	<i>Laurencia caduciramulosa</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Angra dos Reis, Praia do Velho	V. Cassano (não publicado)

LCTE	<i>L. caduciramulosa</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	V. Cassano (não publicado)
KX258821	<i>Laurencia cf. flexuosa</i>	África do Sul: Província do Cabo Oriental	Rousseau <i>et al.</i> 2017
HQ423054	<i>Laurencia nidifica</i>	EUA	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422750	<i>L. nidifica</i>	EUA	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422751	<i>L. nidifica</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
KF492718	<i>Laurencia catarinensis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Lanzarote, Pechiguerras	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
OK209904	<i>L. catarinensis</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
OK209903	<i>L. catarinensis</i>	EUA: Flórida	Popolizio <i>et al.</i> 2022
LCSC	<i>L. catarinensis</i>	Brasil, Santa Catarina, Florianópolis, Prainha da Barra da Lagoa	V. Cassano (não publicado)
GU223877	<i>Laurencia mcdermidiae</i>	EUA: Oahu	Kurihara <i>et al.</i> 2010
MK796229	<i>Laurencia karachiana</i>	Paquistão: Karachi, Buleji	Bibi <i>et al.</i> 2019
KX258820	<i>Laurencia cf. brongniartii</i>	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty	Rousseau <i>et al.</i> 2017
MF093985	<i>Laurencia snackeyi</i>	-	Díaz-Tapia <i>et al.</i> 2017
OK209905	<i>Laurencia microcladia</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
OK209896	<i>L. microcladia</i>	EUA: Ilhas Virgens	Popolizio <i>et al.</i> 2022
HM915955	<i>Corynecladia clavata</i>	Austrália	Saunders & Withall (não publicado)
MH704456	<i>C. clavata</i>	Austrália: Victoria, The Caves	Cassano <i>et al.</i> 2019
KJ960886	<i>Osmundea pinnatifida</i>	França: Bretanha, Le Loup	Robuchon <i>et al.</i> 2014
KJ960875	<i>Osmundea osmunda</i>	França: Bretanha, Le Loup	Robuchon <i>et al.</i> 2014
KM254974	<i>Osmundea spectabilis</i>	EUA: Califórnia, Aquarium Reef, Monterey Bay	Saunders 2014
KM254320	<i>O. spectabilis</i>	EUA: Califórnia, McAbee Beach, Monterey	Saunders 2014
KM254377	<i>Osmundea splendens</i>	EUA: Califórnia, Santa Cruz (Four Mile)	Saunders 2014
KX258831	<i>Osmundea hybrida</i>	França: Bretanha, Finistère, Roscoff	Rousseau <i>et al.</i> 2017
GU223884	<i>Ch. succisus</i>	EUA: Molokai	Kurihara <i>et al.</i> 2010

GU223886	<i>Chondrophycus</i> cf. <i>undulatus</i>	EUA: Maui	Kurihara <i>et al.</i> 2010
HQ422613	<i>Ch.</i> cf. <i>undulatus</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422752	<i>Ch. undulatus</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ423055	<i>Ch.</i> cf. <i>undulatus</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422996	<i>C. undulatus</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ423050	<i>Chondrophycus dotyi</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
HQ422996	<i>Chondrophycus undulatus</i>	EUA: Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
KX258816	<i>Chondrophycus</i> sp.	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KX258813	<i>Chondrophycus</i> sp.	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KX258814	<i>Chondrophycus</i> sp.	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KX258817	<i>Chondrophycus</i> sp.	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty	Rousseau <i>et al.</i> 2017
MN597440	<i>Ch. anabeliae</i>	México: Quintana Roo, Isla Mujeres, Garrafon de Castilla	Sentíes <i>et al.</i> 2016
MN597439	<i>Ch. anabeliae</i>	Venezuela: Estado do Falcão, Parque Nacional Morrocoy, Cayo Muerto	Cassano <i>et al.</i> 2020
MN597438	<i>Ch. anabeliae</i>	Venezuela: Estado do Falcão, Parque Nacional Morrocoy, Cayo Muerto	Cassano <i>et al.</i> 2020
OK209884	<i>Ch. planiparvus</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
KX258830	<i>Ohelopapa flexilis</i>	Polinésia Francesa: Taiti, Taiti, recife de Tahara	Rousseau <i>et al.</i> 2017

Tabela 7. Lista de sequências de *rbcL* obtidas do GenBank e usadas para o enriquecimento das análises moleculares deste estudo.

Código do GenBank	Táxon	Local de Coleta	Referências
U04021	<i>Chondria dasyphylla</i>	EUA: NC, Carteret Co., Bogue Sound	Fredericq <i>et al.</i> 1996
AY172578	<i>C. californica</i>	EUA: Califórnia, San Diego Co., Beach Club Reef (La Jolla Shores)	McIvor <i>et al.</i> 2002
GU330225	<i>C. collinsiana</i>	Brasil, Rio de Janeiro Armação dos Búzios,, Praia Rasa	Cassano <i>et al.</i> 2012b
EU256327	<i>Palisada perforata</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Bahia Izquierda, Faro, Punta del Hidalgo	Cassano <i>et al.</i> 2007
EF658641	<i>P. perforata</i>	México: Quintana Roo, Cancún, Isla Mujeres	Cassano <i>et al.</i> 2007

MH388526	<i>P. perforata</i>	Venezuela: Falcon, Playa Buchuacos	Garcia-Soto & Lopez Bautista 2019
OK209867	<i>P. perforata</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
GU330227	<i>Palisada flagellifera</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Praia do Cemitério	Cassano <i>et al.</i> 2012b
OK209866	<i>P. flagellifera</i>	Bermuda	Popolizio <i>et al.</i> 2022
KX146194	<i>Palisada</i> sp.	Nova Caledônia: Ilot Bayes	Rousseau <i>et al.</i> 2017
GU330226	<i>Palisada furcata</i>	Brasil: Paraíba, Praia de Tambaú	Cassano <i>et al.</i> 2012b
EF061646	<i>Palisada corallopsis</i> (como <i>Chondrophycus corallopsis</i>)	México: Yucatan, Cancún, Chaac Mool Beach	Sentíes & Díaz-Larrea 2008
FJ785321	<i>Palisada</i> cf. <i>robusta</i>	Nova Caledônia: Lifou	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
MG030375	<i>Palisada cervicornis</i>	EUA: Flórida, Key Largo, Pickles reef	Collado-Vides <i>et al.</i> 2017
MG020476	<i>P. cervicornis</i>	EUA: Flórida, Key Largo, Pickles reef	Collado-Vides <i>et al.</i> 2017
KX146196	<i>Palisada crustiformans</i>	EUA: Havaí, Oahu, Makapuu	Rousseau <i>et al.</i> 2017
GU330228	<i>Laurencia dendroidea</i>	Brazil: Bahia, Lauro de Freitas, Praia Vilas do Atlântico	Cassano <i>et al.</i> 2012b
MH388528	<i>L. dendroidea</i>	Venezuela: Falcon, Playa Buchuacos	Garcia-Soto & Lopez Bautista 2019
OK209876	<i>L. dendroidea</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
-	<i>L. dendroidea</i>	Austrália: Kiama	Metti <i>et al.</i> 2013
-	<i>L. dendroidea</i>	Austrália: Batehaven	Metti <i>et al.</i> 2013
-	<i>L. dendroidea</i>	Austrália: Lord Howe Island	Metti <i>et al.</i> 2013
KY927790	<i>Laurencia sodwaniensis</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
KX146184	<i>L. "majuscula"</i>	Oman: Dohfar	Rousseau <i>et al.</i> 2017
KX146182	<i>Laurencia</i> sp.	Nova Caledônia: Ilhas Loyalty, Mare	Rousseau <i>et al.</i> 2017
MK125344	<i>Laurencia</i> sp.	Austrália: VIC, Mallacoota	Verbruggen & Costa (não publicado)
AY588410	<i>Laurencia intricata</i>	EUA: Flórida, Long Key, Canal 5 (lado do oceano)	Fujii <i>et al.</i> 2006
GU330238	<i>L. intricata</i>	Cuba: Cayo Coco, Ciego de Ávila	Cassano <i>et al.</i> 2012b
EF658643	<i>L. intricata</i>	México: Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> 2009

AF281881	<i>Laurencia obtusa</i>	Irlanda, County Donegal, Fanad Head	Nam <i>et al.</i> 2000
EF685999	<i>Laurencia viridis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Roca Negra, Punta del Hidalgo	Gil Rodriguez <i>et al.</i> 2009
FJ785316	<i>Laurencia pyramidalis</i>	França: Brittany, Roscoff	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
MH704451	<i>Laurencia longiramea</i> (como " <i>Laurencia</i> sp.")	Brasil: Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia Rasa	Cassano <i>et al.</i> 2019
MK159179	<i>Laurencia mutueae</i>	México: Acapulco, La Roqueta	Sentíes <i>et al.</i> 2019
EF061654	<i>Laurencia</i> cf. <i>brongniartii</i>	Austrália: Tarcoola Beach	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> 2010
KY927738	<i>Laurencia complanata</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
KJ700865	<i>Laurencia caduciramulosa</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Angra dos Reis, Praia do Velho	Collado-Vides <i>et al.</i> 2014
KF279401	<i>Laurencia laurahuertana</i>	México	Mateo-Cid <i>et al.</i> 2014
EF061655	<i>Laurencia venusta</i>	México, Quintana Roo, Puerto Morelos, Punta Brava	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
KY120346	<i>L. venusta</i>	Austrália: Lord Howe Island, far rocks	Metti <i>et al.</i> 2015
KY120345	<i>L. venusta</i>	Austrália: Lord Howe Island, far rocks	Metti <i>et al.</i> 2015
GQ252550	<i>Laurencia yamadana</i>	EUA: Kihei, Maui	Carlile & Waaland (não publicado)
MH704449	<i>Laurencia filiformis</i>	Austrália: Tarcoola Beach	Cassano <i>et al.</i> 2019
KY927791	<i>Laurencia dichotoma</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
KY927763	<i>Laurencia glomerata</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
AF465816	<i>Laurencia natalensis</i>	África do Sul: Palm Beach, S. Kwa Zulu-Natal	Fujii <i>et al.</i> 2006
MH388523	<i>L. natalensis</i>	Venezuela: Falcon, Cabo San Roman	García-Soto & Lopez Bautista 2019
MH388598	<i>L. natalensis</i>	África do Sul: Natal, Reunion Rocks, Isipingo	García-Soto & Lopez Bautista 2019
AY920852	<i>Laurencia rigida</i>	Australia: NSW, Botany Bay	Zuccarello & West 2006
KY120344	<i>Laurencia heteroclada</i> f. <i>decussata</i>	Austrália: NSW, Arrawarra headland	Metti <i>et al.</i> 2015
JF810352	<i>Laurencia oliveirana</i>	Brazil: Rio de Janeiro, Arraial do Cabo, Ponta da Cabeça	Cassano <i>et al.</i> 2012c
AY588411	<i>Laurencia pacifica</i>	EUA: Califórnia, Moss Beach, Central Beach,	Fujii <i>et al.</i> 2006
AF465815	<i>Laurencia flexuosa</i>	África do Sul: S. Kwa Zulu-Natal, Palm Beach	Fujii <i>et al.</i> 2006

KY927749	<i>Laurencia alfredensis</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
MF094081	<i>Laurencia tasmanica</i>	-	Díaz-Tapia <i>et al.</i> 2017
MK125395	<i>Laurencia</i> sp.	Australia: VIC, Mallacoota	Verbruggen & Costa (não publicado)
KY927743	<i>Laurencia stegengae</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
KY927760	<i>Laurencia corymbosa</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
EF658642	<i>Laurencia caraibica</i>	Mèxico: Quintana Roo, Cancún, Isla Mujeres	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> 2009
MH388533	<i>L. caraibica</i>	Venezuela: Falcón, Cabo San Roman	García-Soto & Lopez Bautista 2019
KF492781	<i>Laurencia catarinensis</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
OK209872	<i>L. catarinensis</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>L. catarinensis</i>	Brasil: Santa Catarina	
JF810351	<i>Laurencia aldingensis</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia Rasa	Cassano <i>et al.</i> 2012 ^a
FJ785315	<i>Laurencia</i> cf. <i>nidifica</i>	Nova Caledônia, Ile des Pins	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
KY927766	<i>Laurencia multiclavata</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
FJ785314	<i>Laurencia</i> cf. <i>mcdermidiae</i>	Nova Caledônia	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
KY927748	<i>Laurencia digitata</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
FJ785322	<i>Laurencia</i> cf. <i>kuetzingii</i>	Nova Caledônia	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
KY927757	<i>Laurencia pumila</i> var. <i>dehoopiensis</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
KY927765	<i>Laurencia pumila</i>	África do Sul	Francis <i>et al.</i> 2017
MK796228	<i>Laurencia karachiana</i>	Paquistão: Karachi, Buleji	Bibi <i>et al.</i> 2019
OK209880	<i>Laurencia microcladia</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022
OK209881	<i>Laurencia microcladia</i>	EUA: Ilhas Virgens	Popolizio <i>et al.</i> 2022
EF686002	<i>Laurenciella. marilzae</i>	Espanha: Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> 2009
GU938189	<i>Ll. marilzae</i>	Brasil: São Paulo, Parque Estadual Marinho da Laje de Santos, Parcel do Sul	Rocha-Jorge <i>et al.</i> 2010
KX146186	<i>Ll. marilzae</i>	Croácia: Scedro	Rousseau <i>et al.</i> 2017
MG004184	<i>Ll. marilzae</i>	EUA: Flórida, Key Biscayne, Crandon Park	Collado-Vides <i>et al.</i> 2018

MG004183	<i>Laurenciella mayaimii</i>	EUA: Flórida, Key Largo	Collado-Vides <i>et al.</i> 2018
EF061650	<i>Yuzurua poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i> (como <i>Chondrophycus gemmiferus</i>)	Cuba: La Havana, Rincón de Guanabo	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
EF061652	<i>Yuzurua poiteaui</i> var. <i>poiteaui</i> (como <i>Chondrophycus gemmiferus</i>)	EUA: Flórida, Long Key, Ovan Side	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
EF061653	<i>Yuzurua poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i> (como <i>Chondrophycus gemmiferus</i>)	México: Yucatán, Cancún, Playa del Carmen	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
EF061648	<i>Yuzurua poiteaui</i> var. <i>poiteaui</i> (como <i>Chondrophycus gemmiferus</i>)	México: Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
KY120339	<i>Corynecladia elata</i> (como <i>Coronaphycus elatus</i>)	Austrália: Western Australia, Ilha Rottneest	Metti <i>et al.</i> 2015
MF094079	<i>Corynecladia clavata</i> (como <i>Laurencia clavata</i>)	Austrália, Victoria, Walkerville	Díaz-Tapia <i>et al.</i> 2017
KY120340	<i>Corynecladia nova</i> (como <i>Coronaphycus novus</i>)	Austrália: NSW, Jervis Bay, Plantation Point	Metti <i>et al.</i> 2015
KX146187	<i>Ohelopapa flexilis</i>	Polinésia Francesa: Taiti, Tahara reef	Rousseau <i>et al.</i> 2017
AY588407	<i>Osmundea sinicola</i>	EUA: Califórnia, Orange County, Crescent Beach	Fujii <i>et al.</i> 2006
AY172575	<i>Osmundea blinksii</i>	EUA: Califórnia, San Mateo Co., Año Nuevo, Greyhound Rock	McIvor <i>et al.</i> 2002
AY172576	<i>Osmundea splendens</i>	EUA: Baja California, Bahia Colnett, Drift	McIvor <i>et al.</i> 2002
AY172574	<i>Osmundea spectabilis</i> var. <i>spectabilis</i>	México: Baja California, Thomas, Punta Santo	McIvoret <i>et al.</i> 2002
KC012601	<i>Osmundea sanctarum</i> (como <i>Osmundea</i> sp.)	Brasil: São Paulo, Santos, Parque Estadual da Laje de Santos, Parcel do Sul	Rocha-Jorge <i>et al.</i> 2012
AF281880	<i>Osmundea oederi</i> (como <i>Osmundea ramosissima</i>)	Irlanda: Co. Donegal, St. John's Point	Nam <i>et al.</i> 2000
AF281877	<i>Osmundea osmunda</i>	Irlanda: Co. Donegal, St. John's Point	Nam <i>et al.</i> 2000
FJ785317	<i>Osmundea hybrida</i>	França: Brittany, St Lunaire	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
AF259495	<i>Osmundea pinnatifida</i> (como <i>Laurencia pinnatifida</i>)	França: Brittany, Penmarch	Lin <i>et al.</i> 2001
KX146188	<i>Osmundea caspica</i>	Azerbaijão: Baía Sangachal	Rousseau <i>et al.</i> 2017

FJ785307	<i>Chondrophycus</i> cf. <i>undulatus</i>	Nova Caledônia: Loyalty Is., Maré	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
FJ785309	<i>Chondrophycus</i> sp. 1	Nova Caledônia: Loyalty Is., Lifou	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
KX815263	<i>Chondrophycus dotyi</i>	EUA: Havaí, Oahu, Sandy Beach	Senties <i>et al.</i> 2016
FJ785310	<i>Chondrophycus</i> sp. 2	Nova Caledônia: Loyalty Is., Maré	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
AF489864	<i>Chondrophycus tronoi</i> (como <i>Laurencia tronoi</i>)	Filipinas	Lluisma (não publicado)
FJ785311	<i>Chondrophycus</i> sp. 3	Nova Caledônia: Loyalty Is., Beutemps/Beaupré	Martin-Lescanne <i>et al.</i> 2010
KY120337	<i>Chondrophycus</i> sp.	Austrália: Ilha Norfolk, Collins Head	Metti <i>et al.</i> 2015
MN597441	<i>Chondrophycus anabeliae</i>	Venezuela: Estado Falcón, Parque Nacional Morrocoy, Cayo Muerto	Cassano <i>et al.</i> 2020
MN597442	<i>Ch. anabeliae</i>	Venezuela: Estado Falcón, Parque Nacional Morrocoy, Cayo Muerto	Cassano <i>et al.</i> 2020
OK209859	<i>Ch. planiparvus</i>	Bermudas	Popolizio <i>et al.</i> 2022

4.3 Estudo morfológico

O material foi preservado em formol a 4% em água do mar para o estudo morfológico. O estudo morfo-anatômico foi feito por meio de cortes transversais e longitudinais à mão livre com lâmina de barbear, corados com azul de anilina a 0,5%, acidificada com HCl 1N (Tsuda & Abbott 1985). Plantas vivas foram analisadas para a observação de *corps en cerise*. Para cada caráter morfométrico foi feito um mínimo de 10 medidas utilizando-se ocular micrométrica com exemplares escolhidos aleatoriamente. As medidas são dadas em comprimento x diâmetro. A fotodocumentação dos exemplares inteiros foi feita com câmera digital (Sony Cyber Short, W570, Tóquio, Japão), detalhes das porções apicais de râmulos férteis e de características diagnósticas microscópicas foram feitos com câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico Stemi 305 EDU (Zeiss, Göttingen, Alemanha) e ao microscópio óptico Primo Star (Zeiss, Göttingen, Alemanha). Neste trabalho, as características diagnósticas que foram consideradas relevantes estão de acordo com Fujii (1990, 1998), Nam (1999, 2006) e Cassano (2009):

I. Caracteres vegetativos:

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

II. Caracteres reprodutivos:

A. *Plantas masculinas*

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

7. Presença de ramos estéreis nos ramos espermatangiais

B. *Plantas femininas*

1. Forma e diâmetro dos cistocarpos
2. Proeminência do cistocarpo no talo
3. Protuberância do ostíolo no cistocarpo
4. Comprimento e diâmetro dos carposporângios

C. *Plantas tetraspóricas*

1. Comprimento e diâmetro dos ramos tetrasporangiais
2. Origem dos tetrasporângios (tricoblasto ou cortical), visível em corte longitudinal
3. Arranjo dos tetrasporângios (em paralelo ou em ângulo reto em relação ao eixo longitudinal do râmulo fértil), discernível em vista superficial ou em corte longitudinal mediano
4. Diâmetro dos tetrasporângios

Após o estudo morfológico, os exemplares foram herborizados segundo o método corrente em ficologia (Fidalgo & Bononi 1984) e foram depositados nos herbários do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (SPF), da Universidad Central de Venezuela (VEN), Universidad de Carabobo (UC) e do Instituto de Pesquisas Ambientais de São Paulo (SP). Para fins comparativos foram solicitadas imagens escaneadas de materiais-tipo procedentes do herbário do Museu Botânico de Lund, Suécia (LD)

5 RESULTADOS

5.1 Sinopse dos táxons estudados

Rhodophyta

Eurthodophytina

Florideophyceae

Rhodymeniophycidae

Ceramiales

Rhodomelaceae

Chondrophycus (J.Tokida & Y.Saito) Garbary & J.T.

Harper

Chondrophycus sp.

Laurencia J.V. Lamouroux

Laurencia caraibica P.C. Silva

Laurencia catarinensis Cordeiro-Marino & M.T. Fujii*

Laurencia dendroidea J. Agardh

Laurencia aff. *microcladia* Kützing

Laurencia natalensis Kylin

Palisada (Yamada) K.W. Nam

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

Palisada aff. *perforata* 1

Palisada aff. *perforata* 2

*Nova ocorrência para a Venezuela e Mar do Caribe.

Com base nas análises moleculares, complementadas pelo estudo morfológico, sete táxons foram confirmados para a costa venezuelana. Destes, *Laurencia catarinensis*

constitui nova ocorrência para a Venezuela assim como para o Mar do Caribe. A partir das 76 amostras coletadas na Venezuela, foi obtido um total de 94 novas sequências, das quais 65 corresponderam ao marcador mitocondrial do tipo *Barcode*, COI-5P, e 29 ao marcador plastidial *rbcL* (Tabela 8).

Tabela 8. Lista das amostras sequenciadas neste estudo, incluindo dados de coleta, sigla de identificação das sequências e tamanho em pares de base (pb) dos marcadores moleculares utilizados.

Táxon	Código de ID das sequências	Dados da coleta	<i>rbcL</i> (1467pb)	COI-5P (664pb)
<i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 1	AG1	Animas de Guazare, Estado Falcón. B. Vera, S. Ardito. 29/01/2011	X	X
	T14	Taguao, Estado Vargas (La Guaira). A. Brito, B. Vera. 11/08/2015	X	X
	T18			X
	T22		X	
	16	Puerto Escondido, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
	20	Tumatey, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
	21	Puerto Cumarebo, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
	SR2	Santa Rosa, Estado Falcón. B. Vera, S. Ardito. 26/07/2011	X	X
	CV4	Estado Miranda. S. Ardito <i>et al.</i> 25/06/2015		X
	CV5			X
<i>Palisada</i> aff. <i>perforata</i> 2	5	Punta Brava, Estado Falcón. B. Vera, S. Ardito. 18/05/2015	X	X
	4		X	X
	12	Cayo Sal, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 19/05/2015	X	X

	13	Cayo Muerto, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 19/05/2015	X	X
<i>Palisada flagellifera</i>	17	Puerto Escondido, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
	18	Tumatey, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
<i>L. dendroidea</i> J. Agardh	14	Cayo Sal, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 19/05/2015	X	X
	15	Puerto Escondido, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 20/05/2015		X
	CH3	Chichiriviche de la Costa, Estado Vargas (La Guaira).		X
	CH15	A. Brito, B. Vera. 21/07/2014	X	X
	CH12			X
	CH14			X
	CH16			X
	CH17			X
	CH18		X	X
	T1	Taguao, Estado Vargas (La Guaira). A. Brito, B. Vera. 11/08/2014	X	X
	1	Punta Brava, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 18/05/2015	X	X
	2		X	X
	3			X
	9			X
	10	Cayo Muerto, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 19/05/2015	X	X
	LdenCM1905		X	X
<i>Laurencia caraibica</i> P.C.Silva	11	Cayo Muerto, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 19/05/2015	X	X
<i>L. natalensis</i> Kylin	CH4	Chichiriviche de La Costa, Estado Vargas (La Guaira).		X
	CH8	A. Brito, B. Vera. 21/07/2014		X
	CH7a			X

CH2		X	X
CH9		X	X
CH5			X
CH6		X	X
CH10		X	X
CH11			X
RO	Santa Rosa, Estado Falcón. B. Vera. S. Ardito.		X
RO2	26/07/2011		X
V1	Playa Vasito, Estado Vargas (La Guaira). B. Vera, C.		X
V3	Moreno. 30/6/2012	X	X
V7C			X
CV3	Playa Corrales, Estado Miranda, Playa Corrales, 20/05/2015, C. Pereira, V. <i>Hernández</i>		X
B3	Barranquita, Estado Vargas (La Guaira). B. Vera, S. Ardito. 25/07/2011	X	X
T4	Taguao, Estado Vargas (La Guaira). A. Brito, B. Vera.		X
T16	11/08/2014	X	X
T5			X
T12		X	X
T15			X
T19		X	X
Tarma 1	Estado Vargas (La Guaira). M. García.		X
Tarma 2	15/05/2015		X
22	Puerto Cumarebo, Estado Falcón. S. Ardito <i>et al.</i> 25/06/2015	X	X
LC3	Los Caracas, Estado Vargas (La Guaira). B. Vera. 28/06/2011.	X	X

<i>L. aff. microcladia</i>	PA2	Puerto Azul, Estado Vargas (La Guaira). A. Brito, B. Vera. 17/06/2014	X	X
	PA8		X	X
<i>L. catarinensis</i> Cordeiro-Marino & Fujii	PA1			X
	PA3			X
	N2	Naiguatá, Estado Vargas (La Guaira). B. Vera, C. Moreno. 28//06/2011		X
	LC2	Los Caracas, Estado Vargas (La Guaira). B. Vera, C. Moreno. 26//05/2011		X
<i>Chondrophycus</i> sp.	CV8I	Playa Corrales, Estado Miranda. 25/056/2015		X
	CV8II			X

5.2 Estudo molecular

5.2.1 Análises com o marcador COI-5P

Para o COI-5P foi construída uma matriz com 150 sequências com um alinhamento final de 664 pb, sendo 66 geradas neste estudo e as demais obtidas do GenBank. *Chondria baileyana* (Montagne) Harvey (KU564345) foi utilizada como grupo externo. A árvore-consenso de máxima verossimilhança (ML) é mostrada na Figura 3. Dentre os gêneros do complexo, apenas *Corynecladia* e *Laurenciella* tiveram suporte total ou alto para todas as análises. Os demais gêneros tiveram suporte alto a moderado para as análises de ML e BI (Figura 3).

Os métodos de delimitação de espécies (SDM) foram aplicados para cada gênero separadamente, sendo cada agrupamento genérico formado pelas nossas sequências de *Chondrophycus*, *Laurencia* e *Palisada* e aquelas proximamente relacionadas (Figura 4). Os SDM geraram diferentes números de hipóteses primárias de espécies (PHS). De uma forma geral, o ABGD de partição inicial, o ASAP e o PTP foram mais conservados, gerando 20-22 PHS, enquanto o GMYC foi menos conservado, gerando 32 PHS. Analisando a congruência entre os métodos, elaboramos a hipótese secundária de espécies (SSH) com 22SSHs, das quais 8 SSHs são da Venezuela (Figura 4). Por fim, propusemos a existência de 20SSHs no nosso universo amostral.

5.2.1.1 Gênero *Chondrophycus*

Duas sequências do gênero *Chondrophycus* (CV8I e CV8II), 100% idênticas, foram geradas neste estudo (Figura 3), para estas duas sequências não houve correspondência genética com nenhuma sequência de COI-5P disponível no GenBank, as quais foram denominadas aqui como *Chondrophycus* sp. A sequência mais próxima dos nossos espécimes foi *Chondrophycus* sp. da Nova Caledônia (KX258816), cuja relação foi moderadamente sustentada (Figura 3). Os dois táxons apresentaram uma divergência genética de 4,51% (30 nt), indicando que são distintos (Tabela 9). Os demais táxons de *Chondrophycus* sp. que também se agruparam com as nossas sequências, divergiram de 4,51-5,72%. Nossas sequências divergiram de *Chondrophycus anabeliae* Senties, M.T. Fujii, Cassano & Dreckmann, recentemente referida para a Venezuela (Cassano *et al.* 2020), em 7,53% e do México, sua localidade tipo, em 7,22% (Figura 3), confirmando que não correspondem à mesma espécie.

Quatro dos SDM aplicados para as sequências de *Chondrophycus* sp. (Venezuela e Nova Caledônia, n=6) resolveram cinco PHS (PHS1-5), mantendo nossas sequências como uma única PHS (PHS3), enquanto os métodos GMYC único/múltiplo consideraram todos os táxons como uma única PHS (Figura 4). Pelas altas taxas de divergência encontradas e pelos resultados dos SDM, mantivemos como consenso cinco entidades taxonômicas distintas (SHS), com *Chondrophycus* sp. da Venezuela formando uma linhagem independente (Figura 4)

A variação da divergência intraespecífica encontrada no gênero *Chondrophycus* foi de 0 a 0,48% e interespecífica foi de 2,27 a 12,34% (Tabela 23).

Tabela 9. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P dos nossos espécimes de *Chondrophycus* sp. da Venezuela (CV8I e CV8II) e da Nova Caledônia.

Sequências	1	2	3	4	5	6
1 <i>Chondrophycus</i> sp. (KX258817)	-	32	30	36	38	38
2 <i>Chondrophycus</i> sp. (KX258816)	0.0481	-	34	34	30	30
3 <i>Chondrophycus</i> sp. (KX258814)	0.0451	0.0512	-	34	37	37
4 <i>Chondrophycus</i> sp. (KX258813)	0.0542	0.0512	0.0512	-	33	33
5 CV8I	0.0572	0.0451	0.0557	0.0497	-	0
6 CV8II	0.0572	0.0451	0.0557	0.0497	0.0000	-

5.2.1.2 Gênero *Laurencia*

Para o gênero *Laurencia* (96% ML, 0.99 PP), cinco agrupamentos foram formados a partir das sequências geradas neste estudo (Figura 3). O primeiro agrupamento com alto suporte (100% ML, 99% NJ, 1.00 PP), incluiu sequências de *L. dendroidea* (Espanha, Venezuela, Bermudas e Brasil) e sequências identificadas como *L. dendroidea* (Austrália e Havaí, EUA); o segundo com suporte total, agrupou *L. natalensis* (Venezuela); o terceiro, com suporte moderado a alto (99% ML, 94% NJ, 1.00 PP) incluiu *L. aff. microcladia* (Venezuela, amostras PA2, PA8, LC3), *L. microcladia* (Ilhas Virgens Americanas e Bermudas) e *L. caduciramulosa* Masuda & Kawaguchi (Brasil e Espanha); o quarto incluiu *L. caraibica* (Venezuela) e o quinto, com suporte total, agrupou sequências de *L. catarinensis* (Espanha, Venezuela, Flórida, EUA, Bermudas e Brasil) (Figura 3).

A variação da divergência intraespecífica encontrada no gênero *Laurencia* foi de 0 a 2,42 (4,58%) e interespecífica foi de 2,6 a 13,87% (Tabela 24).

O agrupamento de *L. dendroidea* foi dividido em 3 linhagens na análise do COI-5P, a maioria com suporte alto a moderado, representados por sequências do Pacífico (Austrália e Havaí, EUA) e sequências do Atlântico, subdivididas em dois agrupamentos: um com sequências da Espanha, Venezuela e Brasil, e outro com sequências da Venezuela e Bermudas (Figura 3).

Para o agrupamento de *L. dendroidea* do Atlântico, a aplicação dos SDM gerou diferentes números de PSH. Os métodos mais conservados, ABGD (partição inicial), ASAP e PTP geraram uma ou duas PHS, enquanto os menos conservados ABGD (partição recursiva) e GMYC (único/múltiplo) geraram cinco ou seis PHS (Figura 4). A SSH6 formada por sequências do Pacífico (Austrália e Havaí, EUA) foi separada das linhagens do Atlântico por todos os métodos empregados. Por sua vez, as linhagens do Atlântico foram subdivididas de duas a quatro linhagens pela maioria dos métodos. Parte dos métodos (ABGD recursivo e GMYC único/múltiplo) separou os espécimes da Espanha como uma entidade distinta de *L. dendroidea*. No entanto, esses mesmos métodos também segregaram os espécimes do Brasil entre si (Rio de Janeiro e Bahia pelo ABGD e Angra dos Reis, Búzios (RJ) e Bahia pelo GMYC) e as amostras da Venezuela e Bermudas. Por outro lado, os métodos mais conservados (ASAP e PTP) consideraram todos os táxons como uma única entidade, *L. dendroidea*, enquanto o ABGD inicial apontou duas linhagens: uma que incluiu sequências da Venezuela, Espanha e Brasil (localidade tipo) e outra que incluiu sequências da Venezuela, das Bermudas e do Brasil (Figura 4).

A divergência verificada entre as sequências de todo o agrupamento de *L. dendroidea* (n=27) variou de 0 a 7,2% (41 nt, entre *L. dendroidea* da Espanha e Austrália) (Tabela 10), cujo valor máximo corresponde ao nível interespecífico para o gênero *Laurencia* (Cassano *et al.* 2019, Popolizio *et al.* 2022) (Tabela 24).

A SSH7 uniu *Laurencia dendroidea* do Brasil, Espanha, Bermudas e os nossos espécimes da Venezuela (n=23), cujas taxas de divergência variaram de 0 a 4,58% (24 nt) (Tabela 10, Figuras 3, 4). As amostras venezuelanas mostraram divergência genética entre si na faixa de 0 a 2,81% (20 nt) e divergiram das sequências da Espanha de 1,21 a 4,18% (7-24 nt), das Bermudas por 0 a 3,2% (0-15 nt) e do Brasil de 2,1 a 3,46% (14-23nt) (Tabela 10). Os valores mais altos de divergência observados encontram-se dentro da amplitude de variação interespecífica verificada para o gênero *Laurencia* por Cassano *et al.* (2019, 2,6-10,2%) e Popolizio *et al.* (2022, 2,8-9,3%) (Tabela 24). Até então, a maior divergência intraespecífica observada para sequências do COI-5P de *L. dendroidea* era de 2,4% (Popolizio *et al.* 2022), maior valor intraespecífico também entre todas as espécies estudadas do complexo *Laurencia* por esses autores.

Embora três dos SDM tenham resolvido *L. dendroidea* do Brasil (localidade tipo) como linhagens independentes entre si e das demais sequências estudadas (Figura 4) e a nossa amostragem ter revelado uma divergência intraespecífica acima da observada em estudos prévios (Cassano *et al.* 2012a, 2019, Popolizio *et al.* 2022) (Tabela 23), nós optamos em adotar uma posição conservadora e denominar todos os espécimes como *L. dendroidea*, uma vez que a análise morfológica dos espécimes venezuelanos não revelou características diacríticas capazes de separá-los da autêntica *L. dendroidea*. Esses resultados indicam que *L. dendroidea* forma um complexo de espécies e que maiores estudos são necessários para definir de forma inequívoca o *status* taxonômico dos espécimes do Atlântico.

A linhagem de *Laurencia dendroidea* (SSH6) do Pacífico (Austrália e Havaí, EUA) apresentou alta divergência genética dos espécimes da Venezuela, variando de 4,69 a 7,0% (29-40 nt), da Espanha de 4,71 a 7,21% (27-41 nt), das Bermudas de 5,24 a 5,67% (24-26 nt) e do Brasil de 4,81-6,33% (31-35 nt), indicando que podem representar entidades taxonômicas distintas das do Atlântico (Tabela 11).

A separação de *L. dendroidea* da Austrália/Havaí (originalmente depositadas no GenBank como *L. majuscula* (Harvey) A.H.S.Lucas) e da Espanha/Venezuela pelo marcador COI-5P, já foi verificada anteriormente por Serio *et al.* (2020). Embora os autores não tenham fornecido a divergência entre essas duas linhagens, uma análise feita por nós a partir das 11 sequências empregadas por Serio *et al.* (2020) mostrou uma alta divergência, 4,93-7,77%. A separação de *L. “majuscula”* e *L. dendroidea* em dois subclados foi primeiramente verificada por Metti *et al.* (2013) para o gene *rbcL*, cuja divergência genética foi bem mais baixa, 0-1,35%. Metti *et al.* (2013) consideraram essa variação como intraespecífica para o *rbcL* e propuseram a coespecificidade de *L. dendroidea* do Brasil com *L. majuscula* da Austrália (localidade-tipo), ampliando a faixa de variação intraespecífica do *rbcL* para o gênero *Laurencia* (Tabela 23). Os resultados do COI-5P, tanto a alta divergência genética observada, quanto os SDM aplicados, claramente separaram a linhagem de *L. dendroidea* (Austrália e Havaí) da autêntica *L. dendroidea* do Brasil. O tratamento taxonômico de *L. majuscula* tem sido instável ao longo de mais de um século. Descrita para a Austrália Ocidental como *L. obtusa* var. *majuscula* por Harvey (1863), a espécie foi primeiramente sinonimizada com *L. dendroidea* por J. Agardh (1876), sinonímia rejeitada por Yamada (1931), que as manteve como entidades distintas, reduzidas a variedades de *L. obtusa* (*L. obtusa* var. *dendroidea*

(J. Agardh) Yamada e *L. obtusa* var. *majuscula*). A variedade *majuscula* foi elevada novamente à categoria específica por Lucas (1935) e mantida como uma espécie independente por Saito & Womersley (1974). Com base em características morfológicas variáveis, Yamada (1931) segregou a var. *majuscula* pela cor vermelha da fronde e pelas células corticais ligeiramente projetadas próximas aos ápices dos ramos, ausentes na var. *dendroidea*, enquanto Saito & Womersley (1974) segregaram a espécie *L. majuscula* pelo hábito arbustivo muito ramificado, células corticais distintamente projetadas e ausência de espessamentos lenticulares. Metti *et al.* (2013) retornaram ao tratamento de J. Agardh (1876) sinonimizando *L. majuscula* com *L. dendroidea* novamente. As características morfológicas utilizadas para separação dessas entidades são extremamente variáveis e não se constituem de valor diagnóstico. Portanto, *Laurencia dendroidea* necessita de uma ampla revisão para uma melhor definição e delimitação desses táxons, e a coespecificidade entre *L. "majuscula"* e *L. dendroidea* necessita ser reavaliada, utilizando-se outros marcadores moleculares e, especialmente, estudos filogenômicos.

Tabela 10. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *L. dendroidea* (linhagem SSH7, Venezuela, Espanha, Brasil e Bermudas). Apenas sequências únicas obtidas neste estudo foram utilizadas para gerar essa Tabela*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>L. dendroidea</i> Venezuela (MH388711)	-	8	15	19	17	15	1	20	21	21
2 <i>L. dendroidea</i> Espanha (KF492728)	0.0139	-	10	11	11	21	7	23	24	24
3 <i>L. dendroidea</i> Brasil, Bahia (BA)	0.0242	0.0174	-	17	13	17	14	19	20	20
4 <i>L. dendroidea</i> Brasil, Angra dos Reis, Rio de Janeiro	0.0307	0.0191	0.0256	-	4	17	19	22	23	21
5 <i>L. dendroidea</i> Brasil, Búzios, Rio de Janeiro	0.0275	0.0192	0.0195	0.0060	-	14	17	18	19	19
6 <i>L. dendroidea</i> Bermudas (OK209900)	0.0349	0.0458	0.0371	0.0371	0.0305	-	15	0	1	1
7 CH12	0.0016	0.0122	0.0210	0.0286	0.0246	0.0327	-	19	20	20
8 Amostra 10	0.0323	0.0401	0.0286	0.0319	0.0255	0.0000	0.0267	-	1	1
9 Amostra 2	0.0339	0.0418	0.0301	0.0346	0.0286	0.0021	0.0281	0.0014	-	2
10 Amostra 3	0.0339	0.0418	0.0301	0.0316	0.0286	0.0021	0.0281	0.0014	0.0028	-

*CH12 idêntica a 14, 15, CH3, CH14, CH15, CH16, CH17, CH18 e T1.

*2 idêntica a 1.

*10 é idêntica a 9, LdenCM1905.

Tabela 11. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *L. dendroidea* (SSH7, Venezuela, Espanha, Brasil e Bermudas) e “*L. dendroidea*” (SSH6, Austrália e Havai, EUA).

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>L. dendroidea</i> Venezuela (MH388711)	-	8	15	15	37	29	40	29
2 <i>L. dendroidea</i> Espanha (KF492728)	0.0139	-	10	21	38	30	41	27
3 <i>L. dendroidea</i> Bahia Brasil	0.0242	0.0174	-	17	33	31	35	32
4 <i>L. dendroidea</i> Bermudas (OK209900)	0.0349	0.0458	0.0371	-	24	26	25	26
5 <i>L. dendroidea</i> Austrália (MT822858)	0.0651	0.0669	0.0580	0.0524	-	19	3	23
6 <i>L. dendroidea</i> Austrália (MT822859)	0.0510	0.0522	0.0545	0.0567	0.0334	-	22	19
7 <i>L. dendroidea</i> Austrália (MT822857)	0.0704	0.0721	0.0633	0.0545	0.0052	0.0387	-	26
8. <i>L. dendroidea</i> EUA (GU223887)	0.0469	0.0471	0.0481	0.0567	0.0404	0.0334	0.0457	-

As sequências de *Laurencia natalensis* geradas neste estudo (n=25) se agruparam com sequências de *L. natalensis* do GenBank da Venezuela, Índia e África do Sul (localidade tipo) (Figuras 3, 4). Quatro dos SDM (ABGD recursivo e inicial, ASAP e PTP) resolveram tais sequências como uma única espécie (PSH), enquanto o GMYC único/múltiplo separou essas sequências em cinco entidades distintas (Figura 4). A divergência verificada entre as sequências venezuelanas e o topótipo foi de 0,75 a 1,8%, enquanto todas as sequências deste clado divergiram de 0 a 2,13% (14 nt) (Tabela 12), amplitude de variação que corresponde aos valores intraespecíficos para o gênero *Laurencia* obtidos por Popolizio *et al.* (2022, 0-2,4%) e por este estudo (Tabela 24). Portanto, tanto os SDM aplicados quanto a divergência intraespecífica observada indicam que todas as sequências correspondem a uma única espécie, *Laurencia natalensis* (SSH10).

Tabela 12. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do COI-5P de espécimes de *L. natalensis* da Venezuela, Índia e África do Sul. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram utilizadas para gerar essa Tabela*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>L. natalensis</i> Venezuela (MH388707)	-	7	11	2	4	4	7	11	7	2
2 <i>L. natalensis</i> África do Sul (MH388736)	0.0106	-	10	7	7	5	8	12	8	5
3 <i>L. natalensis</i> Índia (MT996225)	0.0167	0.0152	-	11	9	9	10	14	10	8
4 CH4	0.0029	0.0106	0.0167	-	4	4	7	11	7	2
5 CH2	0.0060	0.0106	0.0137	0.0056	-	2	7	11	7	2
6 V3	0.0060	0.0075	0.0137	0.0056	0.0028	-	5	9	5	2
7 Tarma1	0.0105	0.0121	0.0152	0.0105	0.0105	0.0074	-	4	2	5
8 Tarma2	0.0165	0.0181	0.0213	0.0165	0.0165	0.0134	0.0060	-	6	8
9 T15	0.0105	0.0121	0.0152	0.0098	0.0098	0.0070	0.0029	0.0089	-	5
10 CH7a	0.0030	0.0078	0.0125	0.0030	0.0031	0.0030	0.0077	0.0124	0.0077	-

*CH4 idêntica a CH8; CH2= CH9, CH5, CH6, CH10 e CH11;

*T15 idêntica a B3, T4, T12, T5, T16, T19 e 22;

*V3 idêntica a R0, RO2, CV3, V7C e V1.

O agrupamento formado por três sequências da Venezuela (PA2, PA8, LC3), 100% idênticas, foi proximamente relacionado com sequências de *L. microcladia* das Ilhas Virgens Americanas e das Bermudas e com *L. caduciramulosa* do Brasil e Espanha com suporte alto a moderado (Figura 3). Quatro dos SDM empregados (ABGD recursivo e inicial, ASAP, PTP) resolveram essas sequências como uma única PSH, enquanto o GMYC único/múltiplo dividiu-as em três PSH distintas (Figura 4). As sequências venezuelanas divergiram em 1,75% (8 nt) da sequência de *L. microcladia* das Ilhas Virgens Americanas, que representa a localidade tipo, designada como Índias Ocidentais (ilhas do Caribe) por Kützing (1865), enquanto divergiram em 1,96% (9 nt) da sequência das Bermudas (Tabela 13). Essa variação (1,75-1,97%) está dentro da faixa intraespecífica verificada por Popolizio *et al.* (2022, 0-2,4%) e por este estudo (Tabela 24).

Laurencia microcladia do Genbank é proximamente relacionada com *L. caduciramulosa* do Brasil e Espanha, apresentando uma divergência interespecífica de 2,19-2,84% (10-13 nt) (Tabela 13), valores que estão próximos da faixa de variação intraespecífica verificada por Popolizio *et al.* (2022, até 2,4%) e dentro da faixa intraespecífica observada neste estudo. Apesar da baixa divergência genética entre *L. microcladia* e *L. caduciramulosa*, morfologicamente as espécies possuem características muito distintivas, como presença râmulos decíduos que ao caírem deixam cicatrizes características nos ramos, restando apenas uma coroa de râmulos apicais em *L. caduciramulosa*; os râmulos decíduos funcionam como propágulos vegetativos, a única forma conhecida de propagação da espécie, para a qual plantas férteis, em qualquer fase do histórico de vida, nunca foram encontradas (Masuda *et al.* 1997, Furnari *et al.* 2001, Cassano *et al.* 2006, 2008, Senties *et al.* 2010, Collado-Vides *et al.* 2014). Além das diferenças vegetativas como ausência de râmulos decíduos e de coroa apical de râmulos, os espécimes da Venezuela apresentam o padrão de ramificação típico de *L. microcladia* da região do topótipo (irregular e com aparência verticilada no terço superior da planta) e, adicionalmente, estavam férteis em fases alternantes, gametofíticas (feminina) e tetrasporofíticas.

Apesar da similaridade morfológica entre as nossas sequências (PA2, PA8, LC3) e *L. microcladia* da localidade tipo e da amplitude de divergência genética entre esses táxons estar dentro da faixa intraespecífica (1,75-1,97%) (Popolizio *et al.* 2022, este estudo), a identificação das nossas amostras como *L. microcladia*, torna essa espécie

parafilética pelos resultados do *rbcL* (Figura 5). Além disso, dois SDM empregados também sustentaram as sequências venezuelanas como uma linhagem independente (SSH13), em consonância com a alta sustentação desse subgrupo (97% ML) (Figura 4). Somando-se a isso, para a espécie proximamente relacionada *L. caduciramulosa*, não há sequências da localidade tipo (Vietnã), de nenhum marcador molecular para comparação, o que inviabiliza esclarecer a posição filogenética da autêntica *L. caduciramulosa*. Assim, nós optamos em denominar nossos espécimes como *L. aff. microcladia* (SSH13) até que mais estudos sejam feitos visando esclarecer seu *status* taxonômico.

Para *Laurencia caraibica* foi gerada a primeira sequência de COI-5P da espécie neste estudo (Figuras 3, 4). A espécie formou uma linhagem independente por todos os SMD empregados (Figura 3). *Laurencia caraibica* da Venezuela foi identificada por comparação com sequências de *rbcL* disponíveis no GenBank de espécimes procedentes da Venezuela e do México (Figura 5). Não há sequências da localidade tipo (Bahamas) para nenhum marcador e a identificação seguiu o conceito molecular atual da espécie, além da análise das características morfológicas.

As quatro sequências de *Laurencia catarinensis* geradas neste estudo se agruparam com *L. catarinensis* de Santa Catarina, Brasil (localidade tipo), Espanha, Flórida, EUA e Bermudas (Figura 3). A divergência verificada entre as sequências variou de 0 a 0,79% (5 nt) (Tabela 14), correspondendo aos valores de variação intraespecífica para o gênero (Tabela 24). A grande maioria dos SDM utilizados também sustentou esse agrupamento como uma única PHS (Figura 4), confirmando que os espécimes venezuelanos correspondem à autêntica *L. catarinensis*, SSH14.

Tabela 13. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de espécimes da Venezuela (PA2, PA8, LC3), *L. microcladia* das Ilhas Virgens e Bermudas e *L. caduciramulosa* do Brasil e Espanha.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>L. caduciramulosa</i> Espanha	-	7	10	13	17	17	17
2 <i>L. caduciramulosa</i> Brasil	0.0105	-	10	11	18	18	18
3 <i>L. microcladia</i> Ilhas Virgens (OK209896)	0.0220	0.0219	-	7	8	8	8
4 <i>L. microcladia</i> Bermudas (OK209905)	0.0284	0.0240	0.0152	-	9	9	9
5 PA8	0.0277	0.0277	0.0174	0.0196	-	0	0
6 PA2	0.0271	0.0271	0.0174	0.0196	0.0000	-	0
7 LC3	0.0271	0.0271	0.0174	0.0196	0.0000	0.0000	-

Tabela 14. Divergência (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *L. catarinensis* do Brasil (localidade tipo), Espanha, Bermudas e dos espécimes da Venezuela.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>L. catarinensis</i> Brasil	-	3	3	3	5	5	5	5
2 <i>L. catarinensis</i> Espanha (KF492718)	0.0051	-	1	1	2	2	2	2
3 <i>L. catarinensis</i> Bermudas (OK209904)	0.0065	0.0022	-	2	3	3	3	3
4 <i>L. catarinensis</i> Flórida (OK209903)	0.0066	0.0022	0.0043	-	3	3	3	3
5 N2	0.0075	0.0034	0.0065	0.0066	-	0	0	0
6 LC2	0.0079	0.0035	0.0066	0.0068	0.0000	-	0	0
7 PA1	0.0079	0.0035	0.0066	0.0068	0.0000	0.0000	-	0
8 PA3	0.0075	0.0034	0.0065	0.0066	0.0000	0.0000	0.000	-

5.2.1.3 Gênero *Palisada*

Para o gênero *Palisada* (100% ML, 1.00 PP), dois agrupamentos foram formados a partir das sequências geradas neste estudo (Figura 3). O primeiro agrupamento com alto suporte (100% ML, 98% NJ, 1.00 PP) incluiu sequências de *P. perforata* da localidade tipo (Espanha, Ilhas Canárias, Tenerife) e sequências identificadas como *P. perforata* (Venezuela, Bermudas). O segundo agrupamento também com alto suporte (100% ML, 99% NJ, 1.00 PP) foi formado por sequências de *P. flagellifera* (Venezuela, Espanha, Bermudas) (Figura 3).

A variação da divergência intraespecífica encontrada no gênero *Palisada* foi de 0 a 2,97% e interespecífica foi de 2,97 a 9,27%.

O agrupamento de *P. perforata* foi dividido em 2 subgrupos na análise do COI-5P, a maioria com alto suporte. O primeiro subgrupo representado por sequência do Atlântico oriental, o topótipo de *P. perforata* (Espanha), mais divergente, e sequências do Atlântico ocidental (Venezuela) e o segundo representado por sequências da Venezuela e das Bermudas (Figura 3).

Para o agrupamento de *P. perforata* a aplicação dos SDM gerou o mesmo número de PSH, representado por 3 linhagens distintas (SSH18, SSH19, SSH20) (Figura 4).

A divergência verificada entre as sequências de todo o agrupamento (n=16) variou de 0 a 4,1% (24 nt), cujo valor máximo corresponde ao nível interespecífico para o gênero *Palisada* (Popolizio *et al.* 2022, 3,9-6,7%) (Tabela 24).

A linhagem SSH20 incluiu sequências geradas neste estudo (AG1, 16, 20, 21, SR2, T14, T18, CV4, CV5, n=9), que se agruparam com *P. perforata* da Venezuela do Genbank (MH388710) com alto suporte para a maioria das análises (Figuras 3, 4). A divergência encontrada entre as sequências da Venezuela variou de 0 a 1,5% (10 nt) (Tabela 15), valores que estão praticamente na faixa de variação intraespecífica verificada por Popolizio *et al.* (2022, 0-1,3%) (Tabela 24), indicando que se trata de uma mesma entidade taxonômica.

A sequência do topótipo (Espanha, KF492773) formou uma linhagem independente (SSH20) por todos os SDM empregados e teve valores altos de divergência quando comparada com as sequências da linhagem SSH20 (3,6-4,1%, 21-24 nt) (Tabela

15), correspondendo à faixa de variação interespecífica para o gênero *Palisada* (Popolizio *et al.* 2022, 3,9-6,7%) (Tabela 24).

Devido à alta divergência verificada pelo COI-5P e aos resultados dos SDM, optamos em denominar esses espécimes venezuelanos como *P. aff. perforata* 1 uma vez que são similares morfológicamente à *P. perforata* conforme circunscrita atualmente (ver Coméntários das análises morfológicas de *P. aff. perforata* 1).

A linhagem SSH18 incluiu quatro sequências geradas neste estudo (4, 5, 12 e 13) e *P. perforata* das Bermudas (OK209891) com alto suporte (Figuras 3, 4). A divergência intraespecífica da linhagem SSH18 foi baixa, variando de 0,14-0,44% (1-2 nt) (Tabela 16), indicando que todas correspondem a uma mesma entidade taxonômica. Porém, foram altamente divergentes da linhagem SSH20 formada por *P. perforata* da Venezuela do GenBank e pelas nossas sequências, com variação de 3,29 a 3,45% (22-23 nt). A divergência entre a linhagem SSH19 e a SSH20 do topótipo da Espanha, foi ainda mais alta, 3,83-4,0% (23 nt) (Tabela 16). Devido à alta divergência da SSH18 em relação às demais linhagens e aos resultados dos SDM empregados, optamos em denominar a SSH18 como *Palisada aff. perforata* 2, uma vez que são similares morfológicamente à *P. perforata* conforme circunscrita atualmente (ver Coméntários das análises morfológicas de *P. aff. perforata* 2).

Resultados semelhantes para o COI-5P foram obtidos por Cassano (2009). No entanto, as relações entre as sequências do topótipo de *P. perforata* da Espanha (Ilhas Canárias, Tenerife), Brasil, México e EUA, incluindo sequências identificadas como *P. papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam, não foram resolvidas pelo gene *rbcL*, cuja divergência variou em apenas 0-0,3% (3 nt). A posição filogenética e a baixa divergência entre essas duas entidades taxonômicas, levaram Cassano *et al.* (2009) a proporem a coespecificidade entre elas, tendo *P. perforata* prioridade sobre *P. papillosa*. Em contrapartida, a divergência entre as sequências do COI-5P dos espécimes brasileiros e das Ilhas Canárias foi bem mais elevada, variando de 0 a 4,1% (27 nt) (Cassano 2009). A proposta de coespecificidade feita por Cassano *et al.* (2009) foi baseada apenas no *rbcL*, gene amplamente adotado à época para identificar espécies e inferir relações filogenéticas. À medida que o COI-5P tem se consolidado como um marcador do tipo *Barcode* e uma maior amostragem tem sido feita para o complexo *Laurencia*, decisões taxonômicas devem ser revisadas utilizando-se mais marcadores ou mesmo análises multigênicas e

filogenômicas. Além disso, a definição de *P. papillosa* depende da comparação de sequência da sua localidade tipo (Mar Vermelho), não disponíveis no GenBank, com os topótipos de *P. perforata* visando esclarecer seu *status* taxonômico, i.e., se deverá permanecer reduzida a um sinônimo de *P. perforata* ou se deverá ser novamente elevada à categoria específica, como uma espécie independente.

O agrupamento formado por *P. flagellifera* incluiu nossas sequências da Venezuela, 100% idênticas (17, 18), uma sequência das Bermudas e uma sequência, mais divergente, da Espanha, com alto suporte (Figura 3). Para este agrupamento, a aplicação dos SDM gerou diferentes números de PSH. Os métodos ABGD (partição inicial/recursiva) GMYC (único/múltiplo) geraram duas PHS, enquanto os demais métodos geraram três PHS (Figura 4), tendo, portanto, a maioria dos SDM resolvido as sequências de *P. flagellifera* da Venezuela, Bermudas e Espanha (Ilhas Canárias) como duas entidades distintas (Figura 4).

As sequências do Atlântico ocidental representadas pela Venezuela e Bermudas divergiram entre si em 1,97% (9 nt) (Tabela 17), valor um pouco acima da faixa de divergência intraespecífica observada para o gênero *Palisada* (0-1,3%, Popolizio *et al.* 2022, 0-1,5%, este estudo). Desta forma, nós consideramos esses espécimes como uma única entidade taxonômica.

A divergência entre as sequências do Atlântico ocidental e oriental (Ilhas Canárias, Espanha) variou de 2,97 a 3,29% (15-17 nt) (Tabela 17). Esses valores de divergência, embora mais altos do que o limite intraespecífico observado, estão abaixo da variação interespecífica para o gênero (3,9-6,7%, Popolizio *et al.* 2022), assim como dos valores verificados para as linhagens de *P. perforata* neste estudo (3,29-4,1%). As análises morfológicas do nosso material de *P. flagellifera* não evidenciaram características distintas dos espécimes das Ilhas Canárias, Espanha, descritos por Gil-Rodríguez *et al.* (2010, 2012), ou mesmo dos espécimes do Brasil (Fujii *et al.* 2006) ou México (Senties & Fujii 2002). Popolizio *et al.* (2022) não descreveram o espécime das Bermudas, porém, detectaram pelo COI-5P um grupo distinto do espécime das Bermudas, assim como nos nossos resultados. Nas análises de Popolizio *et al.* (2002), as sequências de *rbcL* dessas coleções (Ilhas Canárias, Espanha e Bermudas) não se separaram e divergiram em apenas 0,2%. A despeito da separação evidenciada pelo COI-5P, Popolizio

et al. (2022) mantiveram a identificação do seu espécime como *P. flagellifera*, representando a primeira citação desta espécie para as Bermudas.

Palisada flagellifera tem como localidade tipo a Indonésia, para a qual não há sequências depositadas no Genbank para nenhum marcador, assim como não há nenhuma sequência da região do Indo-Pacífico para comparação. Todas as sequências disponíveis são procedentes do Oceano Atlântico (Brasil, Bermudas e Espanha). Portanto, o posicionamento da autêntica *P. flagellifera* ainda é uma questão em aberto. Desta forma, nós consideramos os espécimes da Venezuela como *P. flagellifera*, seguindo o conceito molecular atual da espécie, até que mais dados moleculares, incluindo sequências do topótipo, estejam disponíveis e possam esclarecer o posicionamento da autêntica *P. flagellifera* e, conseqüentemente, o *status* taxonômico dos espécimes do Atlântico.

Tabela 15. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *P. perforata* da Espanha e *P. aff. perforata* 1 da Venezuela. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram utilizadas para gerar essa Tabela*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>P. perforata</i> Espanha (KF492773)	-	22	22	21	22	22	24	23
2 <i>P. perforata</i> Venezuela (MH388710)	0.0379	-	0	1	2	2	10	6
3 AG1	0.0382	0.0000	-	1	2	2	9	6
4 Amostra 16	0.0362	0.0015	0.0015	-	1	1	11	7
5 SR2	0.0381	0.0030	0.0028	0.0015	-	0	11	8
6 Amostra 21	0.0379	0.0030	0.0030	0.0015	0.0000	-	12	8
7 CV4	0.0416	0.0150	0.0139	0.0165	0.0169	0.0180	-	5
8 CV5	0.0400	0.0089	0.0093	0.0105	0.0123	0.0120	0.0075	-

*AG1 idêntica a T14 e T18.

*16 idêntica a 20.

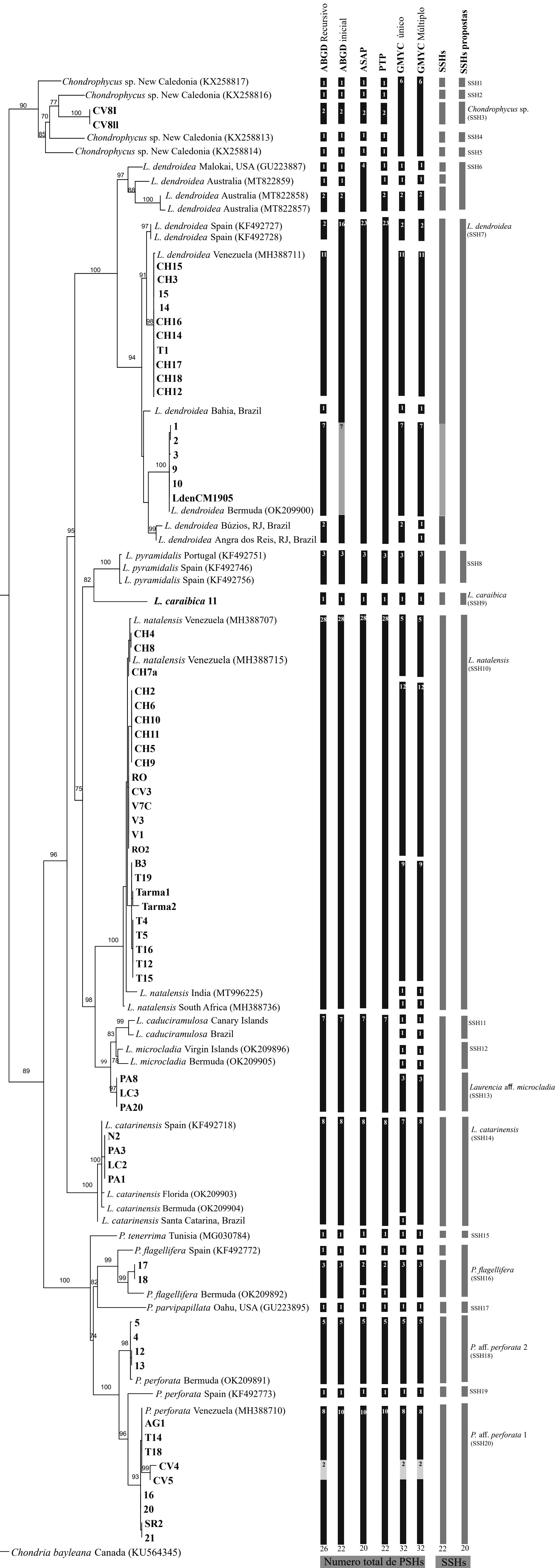
Tabela 16. Divergência (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *P. perforata* da Espanha, Venezuela e Bermudas e *Palisada aff. perforata* 2. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram utilizadas para gerar essa Tabela*

Sequências	1	2	3	4	5	6
1 <i>P. perforata</i> Espanha (KF492773)	-	22	19	23	22	23
2 <i>P. perforata</i> Venezuela (MH388710)	0.0379	-	16	23	22	23
3 <i>P. perforata</i> Bermudas (OK209891)	0.0410	0.0347	-	2	1	2
4 Amostra 5	0.0401	0.0339	0.0044	-	1	2
5 Amostra 4	0.0383	0.0329	0.0022	0.0014	-	1
6 Amostra 12	0.0400	0.0345	0.0022	0.0029	0.0015	-

*12 idêntica a 13.

Tabela 17. Divergência (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de COI-5P de *P. flagellifera* das Bermudas, Ilhas Canárias, Espanha e Venezuela. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso.

Sequências	1	2	3	4
1 <i>P. flagellifera</i> Bermudas (OK209892)	-	15	9	9
2 <i>P. flagellifera</i> Espanha (KF492772)	0.0329	-	17	17
3 Amostra 17	0.0197	0.0297	-	0
4 Amostra 18	0.0197	0.0297	0.0000	-



0.050

Numero total de PSHs SSHs

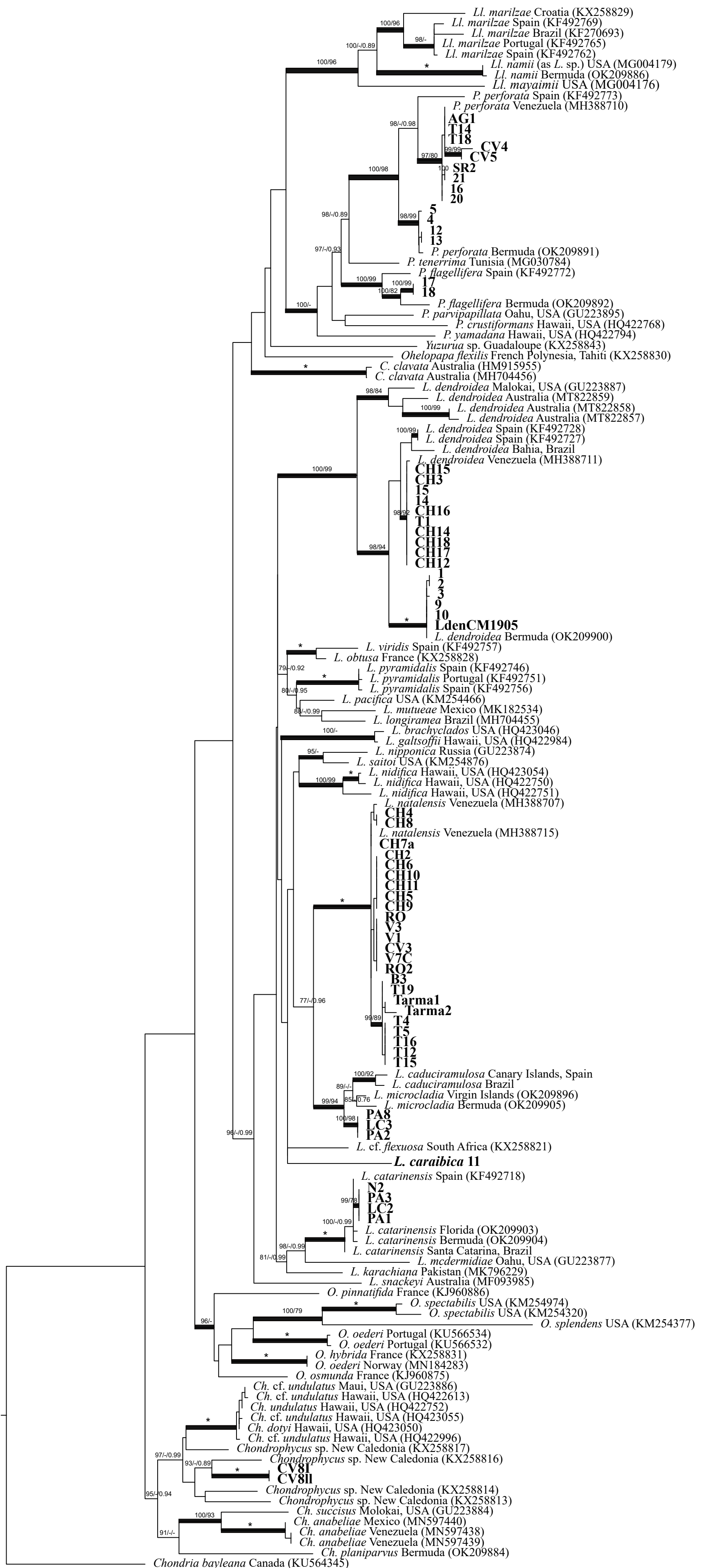


Figura 3. Árvore consenso de máxima verossimilhança (ML) para 149 sequências, incluindo uma do grupo externo, inferida para o COI-5P. Suporte para ML (2000 réplicas) / NJ (2000 réplicas) / PP < 1.0 estão acima dos ramos. PP está representada pela espessura do ramo quando o suporte é total. Sequências geradas neste estudo estão em negrito. (-) indica ausência de suporte ou valores abaixo de 70%. * indica suporte total (100%).

Figura 4. Análise de máxima verossimilhança (ML) para sequências de COI-5P de espécies do complexo *Laurencia* da Venezuela e sequências obtidas do GenBank, e resultados de métodos de delimitação de espécies de marcador único. Valores de bootstrap (2000 réplicas) > 70% estão nos ramos. As amostras geradas neste estudo estão em negrito. Cada coluna em preto indica uma hipótese primária de espécie (PSH) e os números dentro das colunas indicam quantos táxons pertencem a tal, determinada por cada um dos métodos empregados (ABGD, ASAP, PTP, GMYC). A hipótese secundária de espécies (SSH) foi delimitada a partir da congruência entre os métodos, e está representada pela coluna em cinza à direita, seguida pela coluna que indica as SSHs propostas neste estudo, tendo como base também observações morfo-anatômicas das espécies, descrições morfológicas dos topótipos e resultados encontrados para os dois marcadores (*rbcL* e COI-SP).

5.2.2 Análises do marcador *rbcL*

Para o *rbcL* foi construída uma matriz com 137 sequências com um alinhamento final de 1448 pb, sendo 30 geradas neste estudo e as demais obtidas do GenBank. Não conseguimos obter sequências de *Chondrophyucus* sp., *Laurencia catarinensis* e *Palisada flagellifera* para esse marcador. Três sequências foram usadas como grupos externos, *Chondria dasyphylla* (Woodward) C. Agardh (U04021), *Chondria californica* (Collins) Kylin (AY172578) e *Chondria collinsiana* M. Howe (GU330225). Para este marcador, foram geradas análises de neighbor-joining (NJ), máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). A árvore-consenso é mostrada na Figura 5.

As três análises para esse marcador mostraram que o complexo *Laurencia* é monofilético com suporte total (Figura 5). O complexo foi dividido nos oito gêneros monofiléticos atuais, a maioria com suporte total, com exceção de *Corynecladia*, *Palisada* e *Chondrophyucus* para os quais o suporte para NJ foi moderado a alto, 92%, 98% e 89%, respectivamente, e *Ohelopapa* para o qual há apenas uma sequência disponível no GenBank. Embora o monofiletismo dos gêneros seja bem sustentado, as relações entre os gêneros do complexo não foram bem resolvidas pelo *rbcL*. As relações entre *Chondrophyucus*, *Osmundea*, *Ohelopapa* e *Palisada* e os demais gêneros foram, de uma maneira geral, fracamente sustentadas. O gênero *Laurencia* foi resolvido como grupo irmão de clado formado por *Corynecladia*, *Laurenciella* e *Yuzurua* com suporte alto a moderado (96% ML; 0,94 PP). Contudo o clado formado por esses três gêneros foi bem sustentado apenas para a análise Bayesiana (0.99 PP), enquanto a relação do subclado de *Laurenciella* e *Yuzurua* não apresentou suporte para nenhuma análise (Figura 5). Além disso, nossas reconstruções filogenéticas com esse marcador revelaram ausência

de suporte em muitos nós interespecíficos, especialmente em *Laurencia s.s.*, que corresponde ao gênero mais especioso do complexo (Figura 5).

5.2.2.1 Gênero *Laurencia*

Os táxons estudados do gênero *Laurencia* se dividiram em quatro clados distintos. O primeiro clado incluiu sequências de *L. dendroidea* da Venezuela, Brasil, Bermudas e Austrália, e apresentou alto suporte (98% NJ, 99% ML e 1.00 PP). Esse clado é irmão de *L. cf. majuscula* de Omã com suporte total. O segundo clado foi formado por *L. aff. microcladia* (PA2, PA8, LC3) da Venezuela, *L. microcladia* das Ilhas Virgens e Bermudas, *L. caduciramulosa* do Brasil e *L. laurahuertana* e *L. venusta* do México com alto suporte (100%ML, 98% NJ, 1.00 PP). O terceiro agrupou nossas sequências de *L. natalensis* com sequências da Venezuela e da África do Sul (localidade tipo), com suporte total. O quarto incluiu sequências de *L. caraibica* do México e Venezuela também com suporte total.

A variação da divergência intraespecífica encontrada dentro do gênero *Laurencia* foi de 0 a 1,18% e interespecífica de 1,23 a 10,26%, valores mais altos do que os encontrados por Cassano (2012a) e Popolizio *et al.* (2022) (Tabela 24).

O clado de *Laurencia caraibica* agrupou a sequências obtidas neste estudo (amostra 11) com sequências da Venezuela e México do Genbank (EF658642 e MH388533). Não há sequências da localidade tipo para nenhum marcador (Bahamas). A divergência verificada entre as sequências variou de 0 a 2,24% (32 nt) (Tabela 21), uma amplitude de variação um pouco maior do que a estabelecida para o gênero *Laurencia* para o *rbcL* (Cassano *et al.* 2012a).

O clado de *L. dendroidea* foi formado por uma sequência do Brasil (localidade tipo), uma sequência das Bermudas e pelas sequências obtidas neste estudo (n=8), para as quais todas têm sequências correspondentes para o COI-5P (Figuras 3, 5). Nossas sequências da Venezuela se dividiram em dois subclados como nos resultados do COI-5P, porém a grande maioria dessas sequências apresentou divergência <1% (Tabela 18), correspondendo à faixa de divergência intraespecífica para o *rbcL*, verificada por Cassano *et al.* (2012a, 0-0.62%) e Popolizio *et al.* (2022, até 0,5%) (Tabela 23), exceto a amostra

14 da Venezuela cuja divergência do topótipo foi ligeiramente maior, 1,13% (16 nt) (Tabela 18).

A divergência entre as sequências de *L. dendroidea* do Atlântico (Brasil, Venezuela e Bermudas) e da Austrália (originalmente como *L. majuscula*) variou de 1,1-1,69% (15-24 nt), estando um pouco acima da faixa considerada intraespecífica por Metti *et al.* (2013, 0-1,34%) (Tabela 23), uma divergência muito mais baixa do que a verificada pelo COI-5P (5,0-7,22%, 29-41 nt). A baixa divergência do *rbcL* entre os espécimes brasileiros e australianos levou à redução de *L. majuscula* a um sinônimo heterotípico de *L. dendroidea* (Metti *et al.* 2013). Portanto, os resultados do COI-5P não foram corroborados pelo *rbcL*, indicando que as citações de *L. dendroidea* para a Austrália e outras regiões do Indo-Pacífico devem ser revistas.

Tabela 18. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de *L. dendroidea* do Brasil, Venezuela, Bermudas e Austrália. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram inseridas na Tabela.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>L. dendroidea</i> Brasil (GU330228)	-	19	18	20	4	7	5	11	6	10	16
2 <i>L. dendroidea</i> Kiama, Austrália	0.0126	-	0	1	14	18	17	21	16	20	16
3 <i>L. dendroidea</i> Batehaven, Austrália	0.0127	0.0000	-	1	14	18	17	21	16	20	16
4 <i>L. dendroidea</i> Lord Howe Island, Austrália	0.0134	0.0007	0.0007	-	14	18	18	22	17	20	17
5 <i>L. dendroidea</i> Venezuela (MH388528)	0.0035	0.0169	0.0169	0.0169	-	4	1	4	2	5	1
6 <i>L. dendroidea</i> Bermudas (OK209876)	0.0057	0.0149	0.0149	0.0148	0.0049	-	4	0	4	7	3
7 T1	0.0027	0.0112	0.0113	0.0120	0.0012	0.0024	-	7	1	5	12
8 Amostra 1*	0.0056	0.0134	0.0135	0.0142	0.0048	0.0000	0.0028	-	7	11	15
9 CH15	0.0035	0.0115	0.0115	0.0123	0.0024	0.0034	0.0007	0.0036	-	4	1
10 CH16	0.0063	0.0143	0.0143	0.0144	0.0062	0.0058	0.0029	0.0064	0.0029	-	5
11 Amostra 14	0.0113	0.0115	0.0115	0.0123	0.0012	0.0024	0.0085	0.0021	0.0094	0.003	-

*Sequência da amostra 1 é idêntica a 2, 10 e LdendCMvzn.

Nossas sequências de *L. aff. microcladia* da Venezuela (LC3, PA8, PA2) formaram um subclado com alto suporte para ML (100%) e PP (0.99), o qual foi resolvido como grupo irmão de *L. microcladia* (Ilhas Virgens Americanas e Bermudas), *L. venusta* Yamada e *L. laurahuertana* Mateo-Cid, Mendoza-González, Senties & Díaz-Larrea (México), e teve *L. caduciramulosa* do Brasil como grupo irmão mais divergente (Figura 5). As sequências venezuelanas de *L. aff. microcladia* divergiram entre si em apenas 0-0,14% (2 nt). Nossas sequências de *L. aff. microcladia* divergiram das sequências do Caribe (Ilhas Virgens, topótipo, e Bermudas) de 0,57-0,77% (7-9 nt) (Tabela 19), indicando que todas representariam uma mesma entidade taxonômica. Contudo, a divergência genética de todo este clado foi baixa, não ultrapassando 1,23% (11 nt, entre *L. laurahuertana* e *L. caduciramulosa*) (Tabela 19), valor que está dentro da variação intraespecífica para o gênero *Laurencia* (Tabela 24). Além disso, a divergência observada no nosso estudo entre *L. microcladia* das Ilhas Virgens e Bermudas e *L. venusta* do México foi igualmente baixa, variando de apenas 0,16% (2 nt, entre *L. venusta* e o topótipo de *L. microcladia*) a 0,41% (5 nt, entre *L. venusta* e *L. microcladia* das Bermudas).

A proximidade genética das sequências de *rbcL* entre *L. microcladia* e *L. venusta* do Atlântico ocidental já foi previamente verificada por Popolizio *et al.* (2022), cuja divergência descrita (0,2-0,4%), está dentro na faixa dos nossos resultados. De acordo com Popolizio *et al.* (2022), as características de *L. microcladia* estão de acordo com todos os caracteres vegetativos e reprodutivos descritos para *L. venusta* do México, excetuando variações na ramificação, mais claramente esparsa e verticilada em *L. venusta*, e mais irregular do que verticilada em *L. microcladia*, cuja aparência verticilada se dá pelo agrupamento muito próximo dos ramos; assim como no diâmetro dos tetrasporângios e cistocarpos, que tendem a ser maiores em *L. microcladia*, embora se sobreponha nas duas espécies. Essas diferenças podem representar apenas variações morfológicas de *L. microcladia* e é provável que *L. venusta* do México seja um nome mal aplicado para a região. Ainda cabe notar que a divergência entre a sequência identificada como *L. venusta* do México e as da Austrália, região mais próxima à localidade tipo (Japão), foi de 4,7% (67 nt), valores altos e interespecíficos, indicando que não correspondem à mesma espécie.

Laurencia microcladia e *Laurencia aff. microcladia* divergiram de *L. laurahuertana* de 0,48-0,79%, valores que estão na faixa de variação intraespecífica de

L. microcladia (0,14-0,77%) e dentro dos limites intraespecíficos para o gênero *Laurencia* (Tabela 24). Valor intraespecífico similar foi observado por Popolizio *et al.* (2022) entre essas duas espécies, apenas 0,5%. Entretanto, as espécies podem ser facilmente distinguidas morfológicamente pelo tamanho diminuto (4-7 mm de altura apenas), hábito exclusivamente epífito em grammas marinhas, ramificação dicotômica a irregular e células corticais projetadas em *L. laurahuertana*, ausentes em *L. microcladia*. A única sequência de *rbcL* de *L. laurahuertana* disponível no GenBank é mais curta (884 pb) do que as geradas neste estudo (1412 e 1448 pb) e por Popolizio *et al.* (2022) (1217 pb), o que levou esses autores a salientar a necessidade de se gerar sequências mais longas de *rbcL* de *L. laurahuertana* para esclarecer seu *status* taxonômico.

A divergência entre *L. microcladia* e *L. aff. microcladia* de *L. caduciramulosa* variou, respectivamente, 1-1,15% e 0,67-0,79% (Tabela 19), valores que também estão dentro da variação intraespecífica para o gênero *Laurencia* para este marcador (Tabela 24). Morfológicamente, as espécies são claramente distintas conforme já comentado na análise do COI-5P.

Apesar da similaridade morfológica e da baixa divergência genética com *L. microcladia* da região do topótipo, a posição das sequências venezuelanas em um subclado distinto nos impossibilita identificá-las como *L. microcladia*, uma vez que a tornaria parafilética. Embora o *rbcL* tenha apresentado sinal filogenético capaz de separar essas espécies em subclados distintos, esse marcador claramente não se configurou como eficiente na separação das espécies deste clado, a despeito das diferenças morfológicas que apresentam (*L. microcladia*, *L. laurahuertana*, *L. caduciramulosa*). Estas espécies proximamente relacionadas molecularmente merecem maior atenção, com obtenção de mais dados moleculares por meio de sequências de *rbcL* e, especialmente sequências de COI-5P (ainda indisponíveis) das suas respectivas localidades tipo, Vietnã (*L. caduciramulosa*), Japão (*L. venusta*) e México (*L. laurahuertana*), além da inclusão de outros marcadores moleculares mais variáveis como o ITS para melhor delimitação dessas espécies. Adicionalmente, estudos filogenômicos preferencialmente a partir dos topótipos podem ser efetivos para o esclarecimento do *status* taxonômico dessas espécies.

Tabela 19. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de *Laurencia* aff. *microcladia* da Venezuela, *L. microcladia* das Ilhas Virgens e Bermudas, *L. laurahuertana* e *L. venusta* do México e Austrália e *L. caduciramulosa* do Brasil.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>L. caduciramulosa</i> Brasil (KJ700865)	-	11	14	65	63	14	13	10	8	10
2 <i>L. laurahuertana</i> México (KF279401)	0.0123	-	4	39	39	6	4	7	6	7
3 <i>L. venusta</i> México (EF0611655)	0.0096	0.0045	-	67	67	5	2	10	7	10
4 <i>L. venusta</i> Austrália (KY120346)	0.0451	0.0441	0.0472	-	1	63	60	61	61	62
5 <i>L. venusta</i> Austrália (KY120345)	0.0451	0.0441	0.0472	0.0010	-	63	60	59	60	60
6 <i>L. microcladia</i> Bermudas (OK209880)	0.0115	0.0072	0.0041	0.0519	0.0519	-	5	8	8	8
7 <i>L. microcladia</i> Ilhas Virgens (OK209881)	0.0107	0.0048	0.0016	0.0494	0.0494	0.0041	-	9	7	9
8 LC3	0.0069	0.0079	0.0069	0.0423	0.0423	0.0065	0.0074	-	2	0
9 PA8	0.0056	0.0067	0.0049	0.0425	0.0425	0.0065	0.0057	0.0014	-	2
10 PA2	0.0069	0.0079	0.0069	0.0423	0.0423	0.0065	0.0074	0.0000	0.0014	-

O clado de *Laurencia natalensis* agrupou as sequências obtidas neste estudo (n=9) com sequências da Venezuela do Genbank (MH388523 e MH388598) e da localidade tipo desta espécie, que corresponde a África do Sul (AF465816). A divergência verificada entre as sequências variou de 0 a 1,0% (14 nt), sendo a divergência entre as nossas sequências e a do topótipo, 0,41-1,0% (Tabela 20), uma amplitude de variação maior do que a verificada por García-Soto & Lopes Bautista (2019, 0,3%). Contudo, essa amplitude de variação corresponde à faixa intraespecífica estabelecida para o gênero *Laurencia* para o *rbcL* (Cassano *et al.* 2012a), confirmando a identificação dos nossos espécimes como *Laurencia natalensis*.

Tabela 20. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de *rbcL* de *L. natalensis* da Venezuela e da África do Sul. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram utilizadas para gerar essa Tabela*

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>L. natalensis</i> África do Sul (AF465816)	-	4	5	7	10	9	6	7	7	10
2 <i>L. natalensis</i> Venezuela (MH388598)	0.0030	-	7	11	14	13	10	11	13	13
3 <i>L. natalensis</i> Venezuela (MH388523)	0.0036	0.0053	-	4	5	6	3	4	4	6
4 CH2	0.0048	0.0083	0.0028	-	3	4	5	6	6	5
5 CH9	0.0055	0.0092	0.0036	0.0018	-	1	2	5	3	4
6 CH10	0.0062	0.0099	0.0043	0.0025	0.0006	-	3	6	2	5
7 B3	0.0041	0.0076	0.0021	0.0031	0.0012	0.0018	-	3	1	6
8 V3	0.0049	0.0084	0.0029	0.0038	0.0032	0.0038	0.0019	-	4	7
9 T19	0.0048	0.0084	0.0029	0.0038	0.0018	0.0012	0.0006	0.0025	-	7
10 CH6	0.0071	0.0100	0.0029	0.0035	0.0029	0.0036	0.0043	0.0050	0.0050	-

*B3 idêntica a T12 e T1

Tabela 21. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de *rbcL* de espécimes de *L. caraibica* da Venezuela e do México. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso.

Sequências	1	2	3
1 <i>L. caraibica</i> México (EF658642)	-	17	32
2 <i>L. caraibica</i> Venezuela (MH388533)	0.01187	-	3
3 11	0.02248	0.00239	-

5.2.2.2 Gênero *Palisada*

As amostras sequenciadas neste estudo com aspecto morfológico de *Palisada perforata*, como atualmente circunscrita, se agruparam, com suporte total, com a sequência da localidade tipo (Espanha, EU256327), além de sequências da Venezuela (MH388526), Brasil, Bermudas e México. Nossas sequências se dividiram em dois subclados, correspondentes às mesmas amostras sequenciadas para o COI-5P, com exceção da amostra T22 para a qual apenas sequência de *rbcL* foi obtida. Embora o *rbcL* tenha tido sinal filogenético para separar esses subclados, a divergência do clado inteiro foi baixa, variando de 0-0,76% (11 nt), sendo a divergência entre as sequências da Venezuela e do topótipo de *P. perforata* 0,3-0,62% (4-9 nt) (Tabela 22). Portanto, os resultados do COI-5P não foram corroborados pelo *rbcL*, como já verificado por Cassano (2009), e todas as sequências deste clado corresponderiam à autêntica *P. perforata* pelo *rbcL*.

A variação da divergência intraespecífica encontrada no gênero *Palisada* foi de 0 a 0,76% e interespecífica foi de 1,88 a 7,5%.

Tabela 22. Divergência genética (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências de *rbcL* de *P. perforata* da Espanha, México, Brasil, Bermudas e Venezuela. Sequências retiradas do GenBank são reconhecidas pelo código de acesso. Apenas sequências únicas foram utilizadas para gerar essa Tabela*

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>P. perforata</i> México (EF658641)	-	3	2	5	0	0	7	7	6
2 <i>P. perforata</i> Espanha (EU256327)	0.0020	-	3	4	3	3	10	7	7
3 <i>P. perforata</i> Brasil (EU256331)	0.0013	0.0020	-	5	2	2	9	7	6
4. <i>P. perforata</i> Venezuela (MH388526)	0.0038	0.0030	0.0038	-	5	5	7	4	3
5. <i>P. perforata</i> Bermudas (OK209866)	0.0000	0.0024	0.0015	0.0040	-	0	4	7	6
6 Amostra 4	0.0000	0.0021	0.0014	0.0038	0.0000	-	4	7	6
7 Amostra 5	0.0041	0.0062	0.0055	0.0045	0.0024	0.0021	-	11	11
8 AG1	0.0048	0.0055	0.0048	0.0030	0.0056	0.0049	0.0076	-	1
9 T18	0.0041	0.0048	0.0041	0.0022	0.0048	0.0042	0.0069	0.0006	-

*AG1 é idêntica à SR2 e T14, Amostra 4 =12; T22 = T18

Uma comparação da divergência intraespecífica entre os dois marcadores utilizados neste estudo é mostrada na Tabela 23. Nossos resultados mostraram que a divergência intraespecífica para o *rbcL* foi baixa para a maioria dos táxons analisados, \leq 1%, sendo a maior divergência observada entre os espécimes de *Laurencia dendroidea*, 1,69%, que forma um complexo de espécies. Os valores de divergência intraespecífica para o COI-5P foram comparativamente mais altos do que os do *rbcL*, conforme o esperado devido a este marcador possuir uma taxa de mutação mais rápida do que outros marcadores, como do cloroplasto (Avise 1994, Geraldino *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007, Robba *et al.* 2006, Le Gall & Saunders 2010), e como já foi verificado em estudos anteriores do complexo *Laurencia* (Cassano 2009, Cassano *et al.* 2020, Serio *et al.* 2020, Popolizio *et al.* 2022).

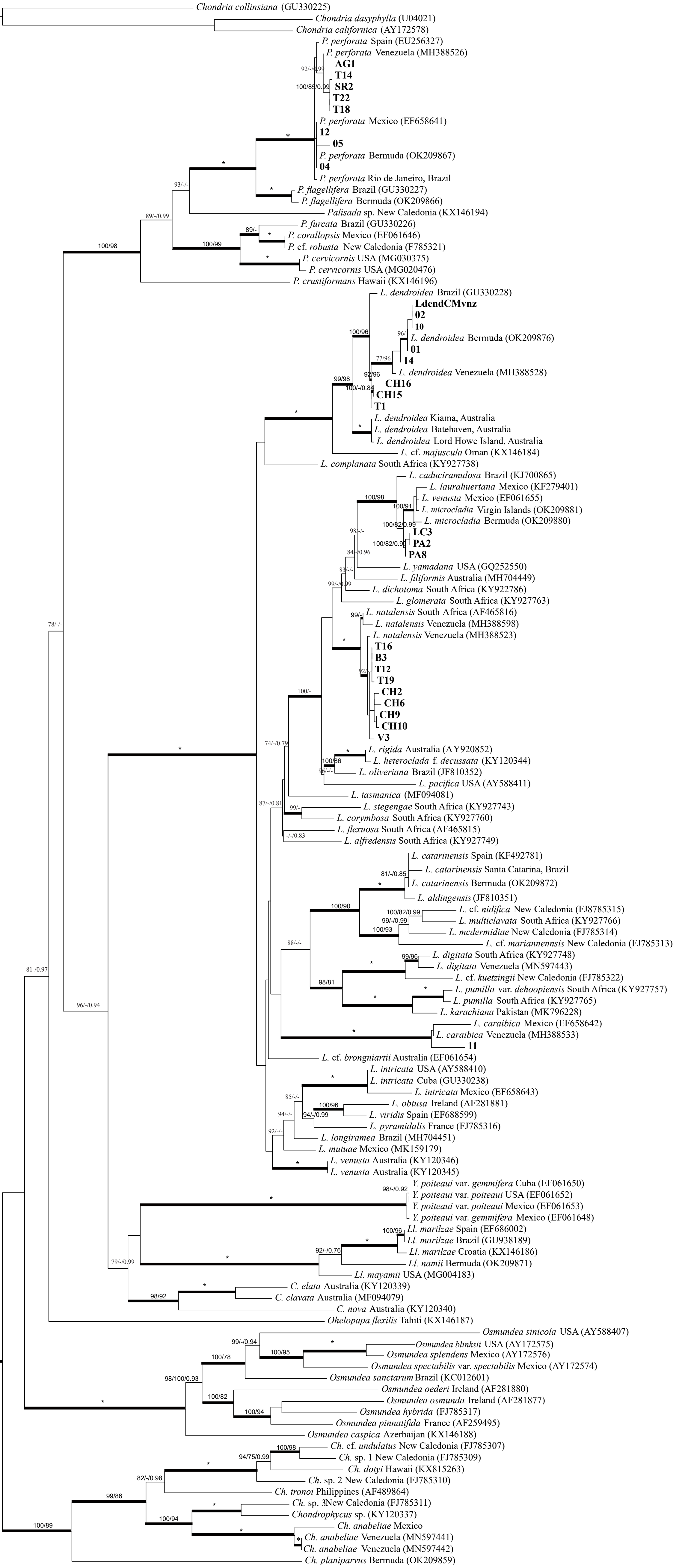


Figura 5. Árvore consenso de máxima verossimilhança (ML) para 136 sequências, incluindo três do grupo externo, inferida para o *rbcL*. Suporte para ML (2000 réplicas) / NJ (2000 réplicas) / PP<1.00 estão acima dos ramos. PP está representada pela espessura do ramo quando o suporte é total. Sequências geradas neste estudo estão em negrito. (-) indica ausência de suporte ou valores abaixo de 70%. (*) indica suporte total em todas as análises.

Tabela 23. Comparação da divergência intraespecífica (%) para os marcadores *rbcL* e COI-SP dos táxons estudados.

Táxons	Divergência intraespecífica	
	<i>rbcL</i>	COI-5P
<i>L. dendroidea</i>	0 a 1,69	0 a 4,18 (4,58)* ¹
<i>L. natalensis</i>	0 a 1	0 a 2,13
<i>L. aff. microcladia</i>	0 a 0,69	0 (1,96)* ²
<i>L. catarinensis</i>	-	0 a 0,79
<i>L. caraibica</i>	0,23 (2,24)*	0,63
<i>P. aff. perforata</i>	0 a 0,76	0 a 1,5* ³
		0,14 a 0,44* ⁴
<i>P. flagellifera</i>	0 a 0,32	0 a 2,97

*Valor máximo referente à *L. caraibica* do México. ¹ Valor máximo referente à linhagem mais divergente das sequências da Venezuela e Bermudas. Excluída da comparação *Laurencia* “*dendroidea*” do Indo-Pacífico (Austrália e Havaí, EUA). ² Valor máximo entre *L. aff. microcladia* e *L. microcladia*. ³ Valor referente à *P. aff. perforata* 1. ⁴ Valor referente à *P. aff. perforata* 2.

Uma comparação da amplitude de variação intra- e interespecífica observada neste estudo e a encontrada na literatura é mostrada na Tabela 23. Nossos valores de divergência intraespecífica para o COI-5P foram superiores aos da literatura para os três gêneros estudados, sendo que para *Laurencia* e *Palisada* houve sobreposição entre os valores intra-e interespecíficos entre espécies desses gêneros que formam complexos ou são mais distantes geograficamente (ocorrentes no Atlântico ocidental e oriental). Para o *rbcL*, nossos resultados foram compatíveis com os da literatura.

Tabela 24. Comparação da divergência intra- e interespecífica (%) dos genes COI-5P e *rbcL* (%) para o complexo *Laurencia*.

Gênero	Este estudo			Literatura		
	Divergência/marcador	Intraespecífica	Interespecífica	Intraespecífica	Interespecífica	Referências
<i>Laurencia</i>	COI-5P	0-4,58*	1,74-13,87	0-1,3	2,6-10,2	Cassano <i>et al.</i> 2019
				0-2,4	2,8-9,3	Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>rbcL</i>	0-1,18	1,23-10,26	0-0,62 0-1,35 0,06-0,5	1,0-6,8 - 1,2-7,3	Cassano <i>et al.</i> 2012a Metti <i>et al.</i> 2013 Popolizio <i>et al.</i> 2022
<i>Palisada</i>	COI-5P	0-3,29* ¹	3,16-9,27	0-1,3	3,9-6,7	Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>rbcL</i>	0-0,76	1,88-7,50	0-0,2 0-0,7	1,4-6,4 2,0-3,0	Cassano <i>et al.</i> 2012a Popolizio <i>et al.</i> 2022
<i>Chondrophyucus</i>	COI-5P	0-0,48	2,27-12,34	0-0,3 0,4	5,4-8,76 8,8-9,3	Cassano <i>et al.</i> 2020 Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>rbcL</i>	0-1,35	1,86-10,02	0-1,34 -	1,86-7,8 2,2-9,5	Cassano <i>et al.</i> 2020 Popolizio <i>et al.</i> 2022
<i>Laurenciella</i>	COI-5P	0,17-1,74	2,10-9,18	-	7,4-9,2	Collado Vides <i>et al.</i> 2018
				0-0,7	-	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2014
				0-5,99	5,21-9,33	Serio <i>et al.</i> 2020
				0,4-1,1	6-9,4	Popolizio <i>et al.</i> 2022
				0-0,2	0,7-1,5	Cassano <i>et al.</i> 2012a
<i>rbcL</i>	0-0,48	3,18-3,67	-	3,1-3,9	Collado Vides <i>et al.</i> 2018	
			0-1,51	3,38-4,50	Serio <i>et al.</i> 2020	
			0,2-0,4	0,9-3,9	Popolizio <i>et al.</i> 2022	
			-	-	-	
<i>Osmundea</i>	COI-5P	1,65	6,62-13,10	0,17-2,15	2,4-10,96	Machín-Sánchez <i>et al.</i> 2016
				0,5-0,8	5,7-12,1	Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>rbcL</i>	-	1,97-9,80	0,4-1,0 0,05-0,6	1,9-10 1,7-5,1	Cassano <i>et al.</i> 2012a Popolizio <i>et al.</i> 2022
<i>Yuzurua</i>	COI-5P	-	-	0-0,8	5,7-6,9	Popolizio <i>et al.</i> 2022
	<i>rbcL</i>	0-0,14	-	0,01-0,02	1,2-1,3	Sentíes <i>et al.</i> 2015

Gênero	Este estudo			Literatura		
	Divergência/marcador	Intraespecífica	Interespecífica	Intraespecífica	Interespecífica	Referências
				-	4,7	Rousseau <i>et al.</i> 2017
					-	Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007
				0-0,2	3,7-5,3	Popolizio <i>et al.</i> 2022
				-		
<i>Corynecladia</i>	<i>rbcL</i>	-	2,48-6,89	0,3	2,5-6,1	Cassano <i>et al.</i> 2019
				-	2,5	Popolizio <i>et al.</i> 2022

*Complexo de *L. dendroidea*

*^l *P. flagellifera*

A comparação da amplitude de variação intergenérica entre os dois marcadores utilizados neste estudo é mostrada na Tabela 25. A divergência entre os gêneros do complexo para o COI-5P variou na faixa de 7,36% (entre *Laurencia* e *Laurenciella*) a 16,53% (entre *Laurencia* e *Osmundea*), estando o valor máximo acima do observado por Cassano (2009, 11,5%). Como já atestado por Cassano (2009), dados de variação intergenérica não têm sido relatados para o COI-5P, uma vez que sequências desse marcador têm sido empregadas para “barcoding”.

A amplitude de variação para o *rbcL* foi um pouco menor que o COI-5P com a maior amplitude entre gêneros *Laurencia* e *Osmundea*, 7,02 a 14,24%. Essa amplitude para o *rbcL* é compatível com a verificada por outros autores, 6,0% (entre *Laurencia* e *Palisada*) a 12% (entre *Palisada* e *Osmundea*) (Cassano *et al.* 2009); 6,8% (entre *Laurencia* e *Palisada*) a 13,7% (entre *Laurencia* e *Osmundea*) (Machín-Sánchez *et al.* 2012).

Tabela 25. Comparação da divergência intergenérica (%) para os marcadores COI-5P e *rbcL* para os gêneros do complexo *Laurencia*.

Gêneros		Div. intergenérica COI-5P	Div. intergenérica <i>rbcL</i>
<i>Laurencia</i>	<i>Palisada</i>	8,58 – 13,32	7,17 – 12, 23
<i>Laurencia</i>	<i>Chondrophycus</i>	8,9 – 14,84	9,24 – 12,66
<i>Laurencia</i>	<i>Corynecladia</i>	7,81 – 11,29	7,72 – 11,54
<i>Laurencia</i>	<i>Laurenciella</i>	7,36 – 14,14	8,24 – 11,07
<i>Laurencia</i>	<i>Osmundea</i>	8,13 – 16,53	7,02 – 14,24
<i>Laurencia</i>	<i>Yuzurua</i>	9,52 – 13	9,12– 12,15
<i>Laurencia</i>	<i>Ohelopapa</i>	8,79 – 12,65	9,47 – 12,95
<i>Palisada</i>	<i>Chondrophycu</i>	9,0 – 13,34	9,23 – 10,87
<i>Palisada</i>	<i>Corynecladia</i>	8,73 – 10,51	8,66 – 9,57
<i>Palisada</i>	<i>Laurenciella</i>	8,72 – 12	9,68 – 11,16
<i>Palisada</i>	<i>Osmundea</i>	9,18 – 13,94	9,92 – 12,93
<i>Palisada</i>	<i>Yuzurua</i>	9,0 – 10,79	10,41 – 10,85
<i>Palisada</i>	<i>Ohelopapa</i>	8,78 – 11,04	8,24 – 10,49
<i>Chondrophycus</i>	<i>Corynecladia</i>	9,78 – 12,17	9,55– 10,85
<i>Chondrophycus</i>	<i>Laurenciella</i>	9,23 – 13,31	10,87 – 12,66
<i>Chondrophycus</i>	<i>Osmundea</i>	8,58 – 13,85	9,53 – 12,87
<i>Chondrophycus</i>	<i>Yuzurua</i>	9,82 – 13,32	10,56 – 12,04
<i>Chondrophycus</i>	<i>Ohelopapa</i>	7,98 – 12,57	10,03 – 11,35
<i>Corynecladia</i>	<i>Laurenciella</i>	9,73 – 11,59%	7,72 – 9,32%
<i>Corynecladia</i>	<i>Osmundea</i>	9,91 – 14,75%	10,3 – 12,79%
<i>Corynecladia</i>	<i>Yuzurua</i>	9,98%	9,12- 9,53%
<i>Corynecladia</i>	<i>Ohelopapa</i>	9,57 – 9,58%	9,93 – 10,32%
<i>Laurenciella</i>	<i>Osmundea</i>	9,55 – 14%	10,04 – 13,97%
<i>Laurenciella</i>	<i>Yuzurua</i>	10,44 – 12,24%	9,81 – 10,80%
<i>Laurenciella</i>	<i>Ohelopapa</i>	9,99 – 11,53%	10,87– 11,64%
<i>Osmundea</i>	<i>Yuzurua</i>	10,13 – 14,81%	11,15– 11,31%
<i>Osmundea</i>	<i>Ohelopapa</i>	9,56 – 13,40%	10,66 – 12,53%
<i>Yuzurua</i>	<i>Ohelopapa</i>	10,09%	11,32 – 12,89%

5.3.1 Estudo Morfológico

Chondrophyucus sp.

Figuras 6-15

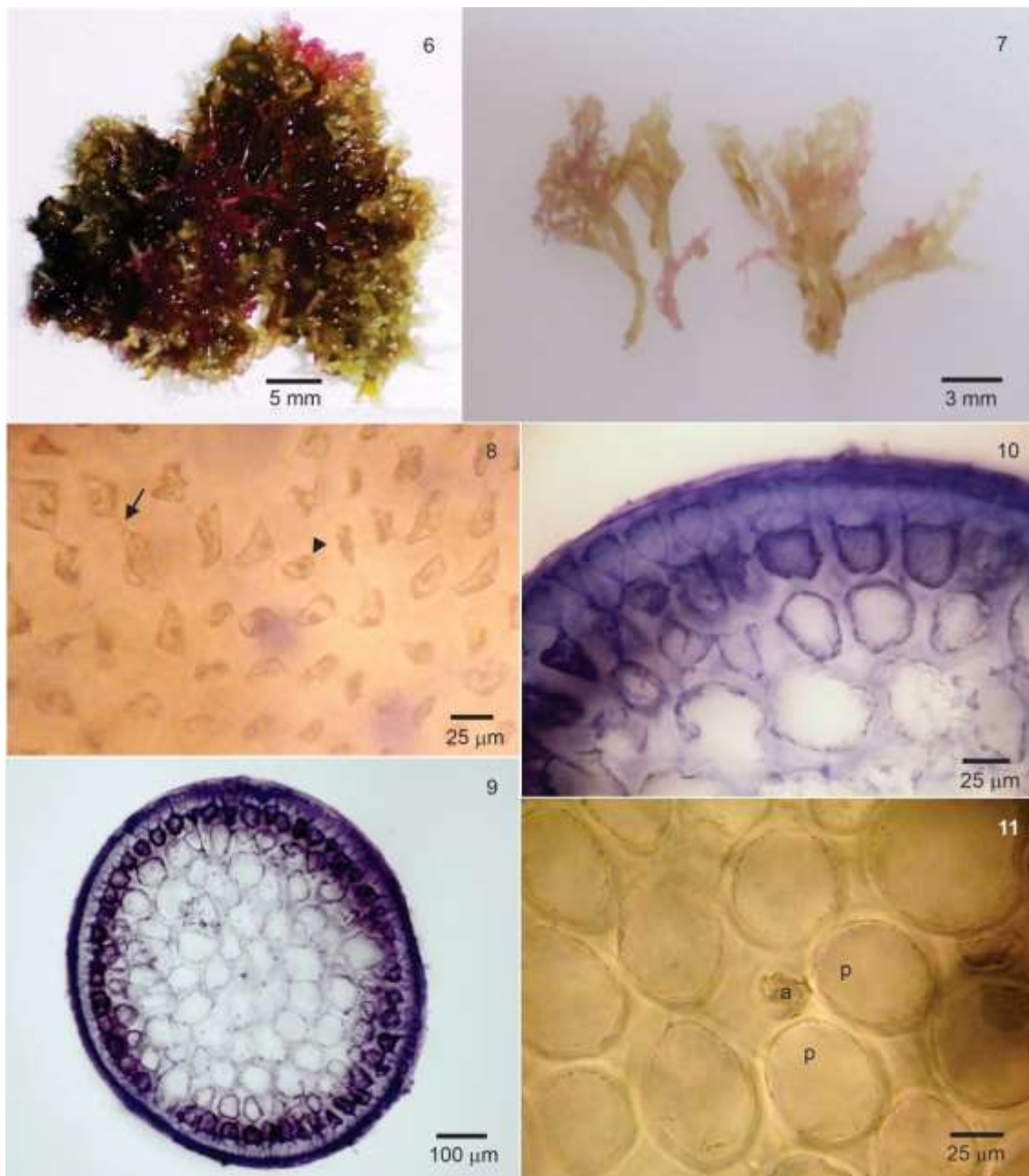
Plantas formando tufos em forma de almofada, cartilagosas em textura, de coloração marrom-avermelhada, com até 3,5 cm de altura (Figuras 6, 7). Fixação dos tufos se faz por conjunto de apressórios formados em contato com o substrato. Eixos eretos cilíndricos com ramificação irregular espiralada, com até 3 ordens de ramos, 450-750 μm de diâm. nas porções medianas do talo. Râmulos de última ordem cilíndricos a clavados, com 200-500 μm de diâm.

Em vista superficial, células corticais mais externas translúcidas, pequenas, isodiamétricas a poligonais, sem ligações secundárias entre si, 20-50 \times 22,5-37,5 μm . Células corticais internas pigmentadas, maiores e conectadas entre si por ligações secundárias, com um cristal por célula (Figura 8). Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo. *Corps en cerise* ausentes.

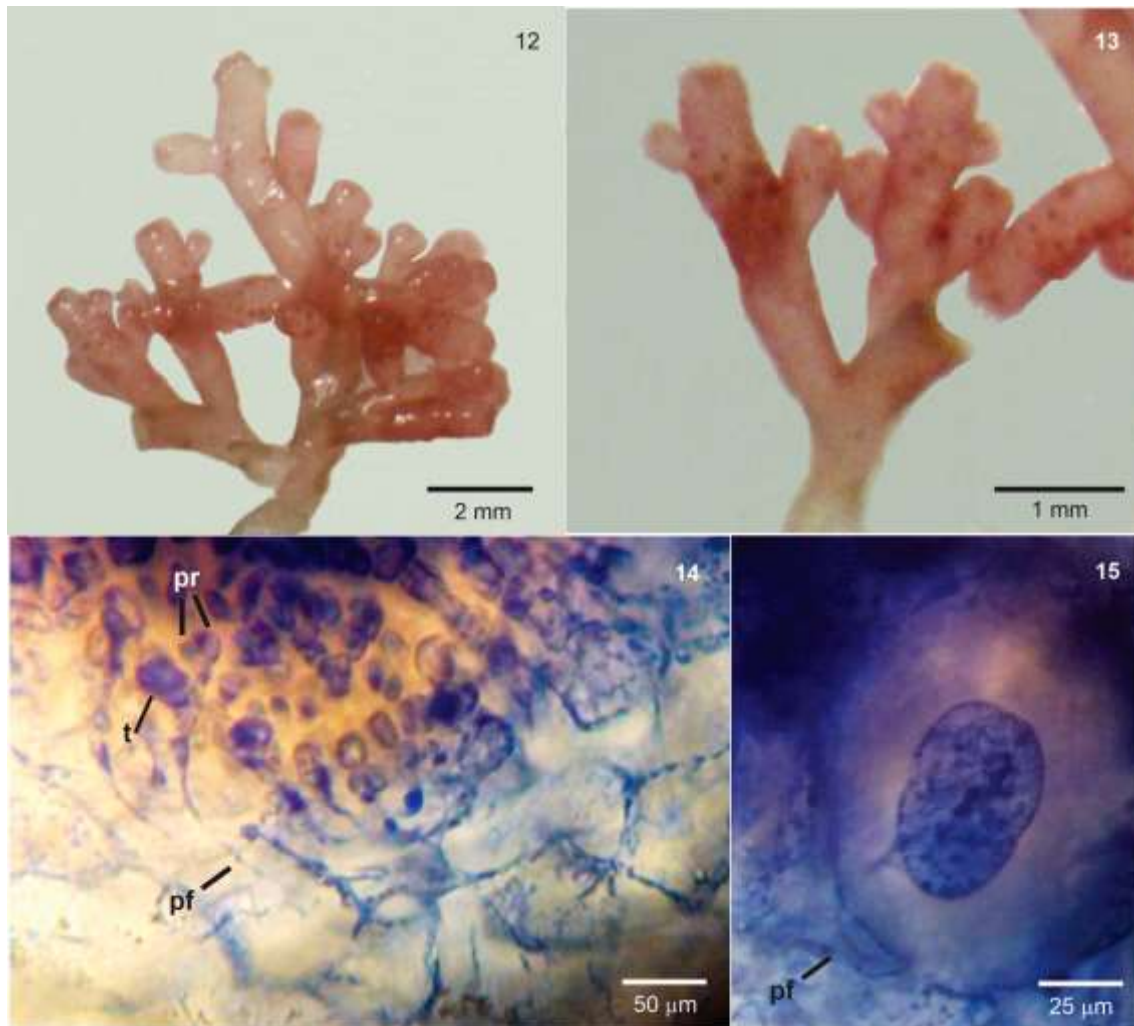
Em corte transversal, talo formado por duas camadas de células corticais e quatro camadas de células medulares (Figura 9). Células corticais não arrançadas como paliçada; células da camada externa translúcida, evidente, quadráticas a cuneiformes, com 22,5-37,5 \times 22,5-30 μm nas porções medianas do talo, menores do que as células da camada interna (Figura 10). Células corticais internas pigmentadas, quadráticas a retangulares, com 37,5-57,5 \times 35-52 μm (Figura 10). Células medulares arredondadas ou ligeiramente alongadas radialmente, hialinas, com 47,5-77,5 \times 45-72,5 μm nas porções medianas do talo. Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas espessamentos lenticulares ausentes. Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentraes (Figura 11).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com 960-4000 \times 450-850 μm (Figuras 12, 13). Tetrasporângios com arranjo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil, originados a partir de célula pericentral (Figuras 12, 13). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura desenvolvida posteriormente (Figura 14). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 52,5-100 μm de diâm. (Figura 15). Plantas masculinas e femininas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Miranda, Playa Corrales, 25/05/2015, leg. C. Pereira, V. Hernández (CV8I, CV8II).



Figuras 6-11. *Chondrophyucus* sp. **Figura 6.** Aspecto geral do talo. **Figura 7.** Detalhe das plantas. **Figura 8.** Vista superficial do talo mostrando células corticais internas com ligações secundárias (seta) e um cristal por célula (ponta de seta). **Figura 9.** Corte transversal do talo com duas camadas de células corticais e quatro camadas de células medulares. **Figura 10.** Detalhe de um corte transversal mostrando duas camadas de células corticais: a externa translúcida e a interna pigmentada. **Figura 11.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentrais (p) e célula axial (a).



Figuras 12-15. *Chondrophyucus* sp. **Figura 12.** Porção apical do talo mostrando râmulos tetrasporangiais. **Figura 13.** Detalhe dos ramos tetrasporangiais com arranjo paralelo dos tetrasporângios. **Figura 14.** Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem dos tetrasporângios (imaturos, t) a partir de células pericentrais férteis (pf) e duas células pré-esporangiais de cobertura (pr); célula pós-esporangial não visualizada. **Figura 15.** Detalhe de um tetrasporângio sobre a célula pericentral fértil (pf).

Comentários: *Chondrophyucus* sp. caracteriza-se pelo seu pequeno tamanho, hábito em tufos em forma de almofada, células corticais externas translúcidas sem ligações secundárias e arranjo paralelo dos tetrasporângios. Dentro do gênero *Chondrophyucus* apenas *C. dotyi* e *C. anabeliae* apresentam células corticais externas translúcidas (Senties *et al.* 2016). *Chondrophyucus anabeliae* foi recentemente citada para a Venezuela por Cassano *et al.* (2020). A despeito de compartilhar com *C. anabeliae* uma camada cortical externa translúcida e a presença de cristais nas células corticais (presentes nas duas

camadas corticais em *C. anabeliae* e apenas na interna em *C. sp.*), esses táxons são muito distintos pelo hábito essencialmente ereto com eixos parcialmente comprimidos, células corticais projetadas próximo aos ápices dos ramos e râmulos e pelo arranjo dos tetrasporângios em ângulo reto em *C. anabeliae*. Igualmente, *C. dotyi* difere morfologicamente de *C. sp.* pelo seu talo comprimido e células corticais projetadas. Adicionalmente, *C. anabeliae* e *C. dotyi* não são proximamente relacionadas à *C. sp.* pela comparação de suas sequências de COI-5P, cujas divergências interespecíficas foram altas, 7,53% e 5,68%, respectivamente, confirmando que representam táxons distintos (Tabela 26).

Caracteristicamente, o gênero *Chondrophyucus* possui tetrasporângios arranjados em ângulo reto, com uma única exceção até o momento, *Chondrophyucus kangjaewonii* (K.W. Nam & C.H. Sohn) D.J. Garbary & J.T. Harper, descrita para a Coreia, cujos espécimes compartilham características com *Laurencia* e *Chondrophyucus*, como arranjo paralelo de tetrasporângios (*Laurencia*) e ausência de ligações secundárias entre células corticais adjacentes (*Chondrophyucus*) (Nam & Sohn 1994), sendo similar ao observado em *C. sp.* Embora não haja sequências disponíveis no GenBank de *C. kangjaewonii* para comparação, morfologicamente *C. kangjaewonii* e *C. sp.* são claramente distintas pelo talo fortemente comprimido, com ramificação alterna dística e ausência de camada cortical translúcida em *C. kangjaewonii* (Tabela 26).

Osmundea pinnatifida é uma outra espécie com camada cortical de células translúcidas citada para a Venezuela (Díaz-Piferrer 1970, Ganesan 1976, Taylor 1976, todos os registros como *Laurencia pinnatifida*), porém, de acordo com Rodríguez de Ríos (1979), os espécimes identificados por Díaz-Piferrer são morfologicamente muito semelhantes a *O. oederi* (Gunnerus) G. Furnari (como *Laurencia bolivarii* N. Rodríguez Ríos), sendo necessário investigar a origem dos tetrasporângios e a anatomia das amostras de Díaz-Piferrer (1970) para confirmar a presença de *O. pinnatifida* na costa venezuelana. Nenhum dos espécimes analisados e sequenciados neste estudo se agrupou com *O. pinnatifida* da França, região mais próxima à localidade tipo, Inglaterra (Maggs & Hommersand 1993). Desta forma, a ocorrência de *O. pinnatifida* na Venezuela não pôde ser confirmada.

Tabela 26. Comparação das características morfológicas de *Chondrophyucus* sp. e espécies relacionadas.

Espécie	Talo	Padrão de ramificação	Céls corticais projetadas	Céls. corticais translucidas	Arranjo dos tetraesporângios	Referências
<i>Ch. anabeliae</i>	Parcialmente comprimido	Irregular espiralada	Presente	Presente	Ângulo reto	Cassano <i>et al.</i> (2020)
<i>Ch. dotyi</i>	comprimido	Irregular dística	Presente	Presente	Ângulo reto	Sentíes <i>et al.</i> (2016)
<i>Ch. kangjaewonii</i>	Fortemente comprimido	Irregular dística	Ausente	Ausente	Paralelo	Nam <i>et al.</i> (1994)
<i>Chondrophyucus</i> sp.	cilíndrico	Irregular espiralada	presente	Presente	Paralelo	Este estudo

***Laurencia caraibica* P.C. Silva, *Taxon*, 21: 205. 1972**

Localidade tipo: Abraham Bay, Mariguana [Mayaguana], Bahamas.

Sinônimo heterotípico: *Laurencia nana* M. Howe in Britton & Millspaugh 1920: 566, *nom. illeg.*

Figuras 16-21

Distribuição: **Ilhas Atlânticas:** Bermudas. **América do Norte:** México. **América Central:** Belize. **Ilhas do Caribe:** Cuba, Martinica, Bahamas, Jamaica, Pequenas Antilhas. **América do Sul:** Brasil, Venezuela. **Sudoeste da Ásia:** Índia. **Sudeste da Ásia:** Filipinas. **Oceano Pacífico: Ilhas do Pacífico:** Polinésia Central, Estados Federados da Micronésia, Polinésia Francesa (Guiry & Guiry 2022)

Plantas sub-eretas formando almofadas fortemente intrincadas, cartilaginosas em textura, de coloração marrom esverdeada, às vezes com eixos esverdeados e ápices rosados, com até 5 cm de altura (Figuras 16, 17). Eixos principais geralmente prostrados originados de apressório discóide e apressórios secundários menores formados a partir dos eixos prostrados, dos quais se originam os eixos eretos. Eixos eretos cilíndricos, com 300-800 µm de diâm. nas porções medianas do talo. Ramificação irregular espiralada, com até 3 ordens de ramos. Anastomoses entre os ramos ausentes.

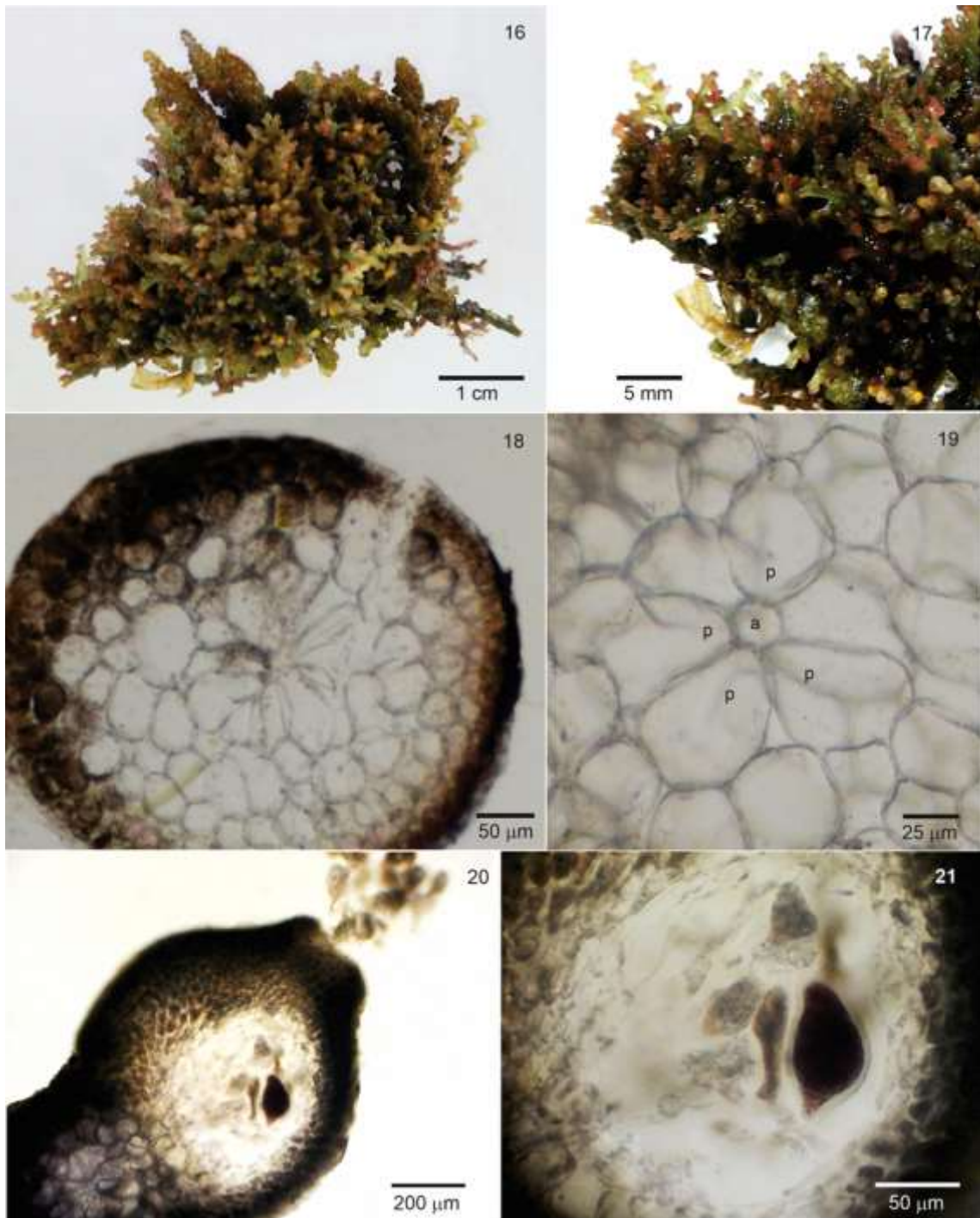
Em vista superficial do talo, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente, com 2 a 3 *corps en cerise* por célula. Células corticais subquadráticas a poligonais nas porções superiores do talo, mais alongadas longitudinalmente nas porções medianas, 25-45 × 15-25 µm.

Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Figura 18). Células corticais quadráticas, não arranjadas como paliçada, com 12,5-30 × 15-25 µm na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 25-80 × 20-52,5 µm na porção mediana do talo. Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentraes ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas (Figura 19). Espessamentos lenticulares não observados.

Plantas femininas com cistocarpos piriformes, proeminentes no talo, dispostos subapicalmente nos râmulos, com 400-710 µm de diâm., sem ostíolo proeminente

(Figura 20). Carposporângios cuneiformes alongados, com $50-75 \times 20-50 \mu\text{m}$ (Figura 21). Plantas masculinas e tetraspóricas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Falcón, Cayo Muerto, 19/05/2015, *S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Senties, M. Cordero, Y. García, J. Escobar* (amostra L11), associada a *Palisada*.



Figuras 16-21. *Laurencia caraibica* P.C. Silva. **Figura 16.** Aspecto geral do talo associado com *Palisada perforata*. **Figura 17.** Detalhe dos ramos. **Figura 18.** Corte transversal do talo com duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco

camadas de células medulares hialinas. **Figura 19.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentraes (p) e célula axial (a). **Figura 20.** Detalhe do cistocarpo. **Figura 21.** Detalhe dos carposporângios.

Comentários: *Laurencia caraibica* (como *L. nana*) foi considerada como ocorrência duvidosa para a Venezuela em uma primeira citação de Hammer & Gessner (1967) e mantida como duvidosa por Rodríguez de Ríos (1979). *Laurencia caraibica* da Venezuela se assemelha morfológicamente aos espécimes descritos para o México e Brasil essencialmente pelo hábito sub-ereto formando almofadas fortemente intrincadas (Senties & Fujii 2002, Fujii & Villaza 2003, Fujii & Senties 2005), porém, difere dos espécimes mexicanos pelos seus ramos comprimidos, ligeiramente achatados, ramificação dicotômica nas porções inferiores do talo e presença de espessamentos lenticulares (Senties & Fujii 2002), não observados nos espécimes da Venezuela (Tabela 27).

Além das diferenças morfológicas, a divergência genética do *rbcL* entre *L. caraibica* da Venezuela e do México (2,24%) apontam que podem representar espécies distintas. As diferenças morfológicas em relação ao material brasileiro são mais amplas, incluindo menor altura do talo (até 1,6 cm apenas) e anastomoses frequentes entre os ramos, ramificação geralmente unilateral e presença abundante de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares (Fujii & Villaza 2003, Fujii & Senties 2005). Além das sequências geradas neste estudo, as sequências de *rbcL* de *L. caraibica* utilizadas nas nossas análises são as únicas disponíveis no Genbank, procedentes do México e da Venezuela. Essa espécie requer maior investigação, preferencialmente combinando estudos morfológicos e moleculares, com obtenção de sequências de DNA de espécimes da localidade tipo (Bahamas) para esclarecer seu posicionamento filoenético, assim como para comparar com os espécimes sequenciados do México e da Venezuela, contudo, nós confirmamos a ocorrência de *L. caraibica* na Venezuela pela correspondência genética com as sequências do Genbank, seguindo o conceito molecular atual da espécie.

Tabela 27. Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes identificados como *L. caraibica* da Venezuela, Brasil e México.

Espécie	Hábito	Talo	Padrão de ramificação	Anastomoses entre ramos	Espessamento lenticular	Referências
<i>L. caraibica</i> México	Sub-ereto formando almofadas	Comprimido (ate 5 cm)	Dicotômica (inferior) e irregular (superior)	presente	ocasionalmente	Sentfés & Fujii (2002)
<i>L. caraibica</i> Brasil	Sub-ereto formando almofadas	Cilíndrico (até 1,6 cm)	Unilateral, irregular alternada	presente	Presente e abundantes	Fujii & Sentfés (2005) Fujii & Villaça (2003)
<i>L. caraibica</i> Venezuela	Sub-ereto formando almofadas	Cilíndrico (até 5 cm)	Irregular espiralada	Ausente	ausente	Este estudo

Laurencia catarinensis Cordeiro-Marino & M.T.Fujii, *Revista Brasileira de Botânica*, 8: 47, Figuras 1-18. 1985.

Localidade tipo: Praia Mole, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Figuras 22-28

Distribuição: **Ilhas Atlânticas:** Bermudas, Ilhas Canárias. **Europa:** Espanha (incl. Ilhas Canárias). **América do Norte:** Flórida. **América do Sul:** Brasil. **Oriente Médio:** Mar Vermelho (Guiry & Guiry 2022)

Plantas crescendo em pequenos tapetes formando almofadas fortemente intrincadas, macias em textura, de coloração violácea intensa a esverdeada com ápices rosados a vináceos, com até 4 cm de altura (Figura 22). Eixos principais geralmente prostrados fixos por apressórios discóides, dos quais partem os eixos eretos. Eixos eretos cilíndricos com 600-900 µm de diâm. nas porções medianas do talo. Ramificação alternada-esprialada a irregular, com até 3 ordens de ramos. Anastomoses ausentes.

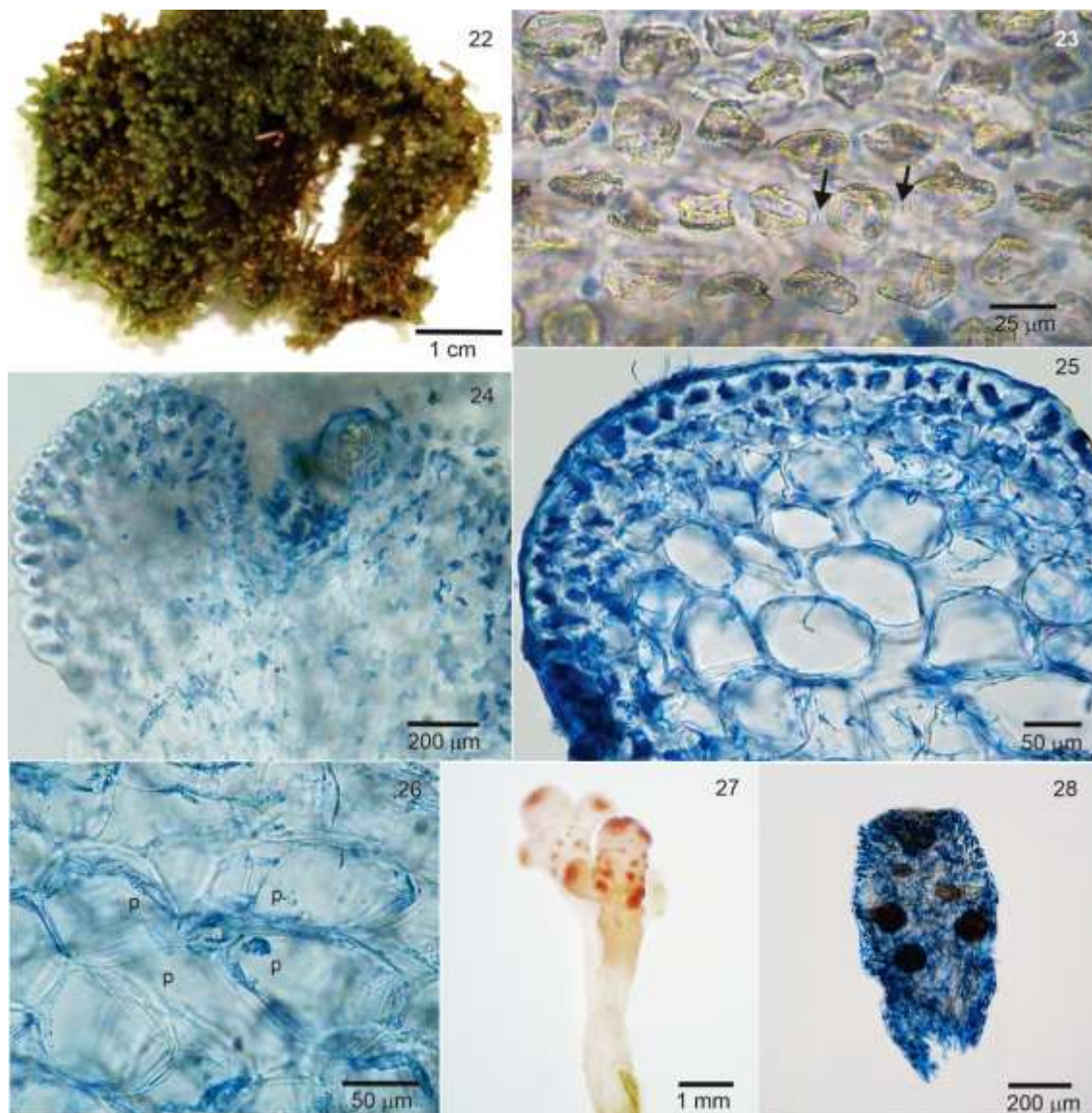
Em vista superficial do talo, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Figura 23), com 1 a 2 *corps en cerise* por célula. Células corticais poligonais nas porções

superiores do talo, com $20-37,5 \times 17,50-32,5 \mu\text{m}$ e longitudinalmente alongadas nas porções medianas, com $25-50 \times 20-30 \mu\text{m}$.

Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais projetadas próximo ao ápice dos ramos (Figura 24). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e três a quatro camadas de células medulares hialinas (Figura 25). Células corticais quadráticas, não arranjadas como paliçada, com $25-37,5 \times 17,5-37,5 \mu\text{m}$ na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente e uniformemente espessadas, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com $70-137,5 \times 42,5-100 \mu\text{m}$. Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentraes que são ligeiramente maiores do que as células medulares circunvizinhas (Figura 26). Espessamentos lenticulares não observados.

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com $720-1100 \times 350-500 \mu\text{m}$. Tetrasporângios arranjados de forma paralela em relação ao eixo do râmulo fértil, tetraedicamente divididos, com $50-100 \mu\text{m}$ de diâm. (Figuras 27, 28). Plantas femininas e masculinas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Vargas (La Guaira), Puerto Azul, 17/06/2014, A. Brito, B. Vera (PA1, PA3), Los Cararas, 28/06/2011, B. Vera, C. Moreno (LC2), Naiguatá, 26/05/2011, B. Vera, C. Moreno (N2).



Figuras 22-28. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino & M.T.Fujii. **Figura 22.** Aspecto geral do talo. **Figura 23.** Vista superficial das células corticais mostrando ligações secundárias (setas). **Figura 24.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais projetadas próximas ao ápice. **Figura 25.** Corte transversal do talo. **Figura 26.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a). **Figura 27.** Detalhe de ramos tetrasporangiais. **Figura 28.** Detalhe de um râmulo com arranjo paralelo dos tetrasporângios.

Comentários: O material analisado está de acordo com a descrição original (Cordeiro-Marino & Fujii 1985) e com outros registros da espécie (Fujii & Senties 2005, Cassano 2009, Machín-Sánchez *et al.* 2012), especialmente quanto ao hábito do talo, intrincado em forma de almofada. A coloração dos talos, com ápices rosados, é coincidente com o descrito por Cassano (2009), Machín-Sánchez *et al.* (2012) e Popolizio *et al.* (2022), mas discordam no número de *corps en cerise* por célula, até dois no material venezuelano e

até três descritos por Cassano (2009) e Machín-Sánchez *et al.* (2012), na ausência de anastomoses no material venezuelano, coincidente com a descrição original, porém descritas por Cassano (2009) e Machín-Sánchez *et al.* (2012), e nas dimensões das células, especialmente as corticais, menores no material analisado (Tabela 28).

Laurencia catarinensis é próxima morfologicamente de *L. caraibica* por compartilharem talos de tamanho reduzido e hábito intricado. Entretanto, de acordo com Fujii & Senties (2005) as espécies podem ser diferenciadas principalmente pela presença de inúmeras anastomoses entre os ramos e abundantes espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares em *L. caraibica*, contudo, anastomoses e espessamentos lenticulares não foram observados nos espécimes venezuelanos de *L. caraibica*, não se constituindo como caracteres efetivos para sua separação de *L. catarinensis*. O emprego de marcadores moleculares foi fundamental para a distinção dessas duas espécies.

Após a sua descrição original para o Brasil, a espécie foi referida para o Oceano Atlântico apenas para a Espanha (Ilhas Canárias, Machín-Sánchez *et al.* 2012; Mar Mediterrâneo, Gallardo *et al.* 2016) e para as Bermudas (Popolizio *et al.* 2022). Portanto, este constitui o primeiro registro de *Laurencia catarinensis* para a Venezuela e para o Caribe.

Tabela 28. Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. catarinensis* do Brasil (localidade tipo), Venezuela e Ilhas Canárias.

Espécie	Hábito	Padrão de ramificação	Anastomoses entre ramos	Corps en cerise	Referências
<i>L. catarinensis</i> Brasil	Intricado em almofada	Esparsa, alterna-espiralada, a irregular, as vezes unilateral	ausente/ presente	2 a 3 (corticais)	Cordeiro-Marino & Fujii (1985, 2005), Cassano (2009)
<i>L. catarinensis</i> Ilhas Canárias	Intricado em almofada	Esparsa, alterna-espiralada, a irregular	presente	1 ou 2 (3)	Machín-Sánchez <i>et al.</i> (2012)
<i>L. catarinensis</i> Venezuela	Intricado em almofada	Alterna-espiralada, a irregular	ausente	Até 2	Este estudo

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

Sinônimo homotípico: *Laurencia obtusa* var. *dendroidea* (J. Agardh) Yamada 1931

Sinônimos heterotípicos: *Laurencia scoparia* J. Agardh 1852

Laurencia obtusa var. *majuscula* Harvey 1863

Laurencia flagellifera Kützing 1865

Laurencia majuscula (Harvey) A.H.S. Lucas 1935

Laurencia kuetzingii A.J.K. Millar 2005

Localidade tipo: Brasil.

Figuras 29-43

Nomes mal aplicados para a Venezuela: *Laurencia obtusa sensu* Rodríguez de Ríos (1979, p. 19-23, Figura 1; prancha 2, Figuras a, b; prancha 14, Figuras a-e; prancha 15, Figuras 1, 2; prancha 16, Figuras a, b; prancha 17, Figuras a-c; prancha 18, Figura 1a, b, Figura 2a, b); Gómez *et al.* (2017, p. 185, 4 Figuras).

Distribuição: **Ilhas Atlânticas:** Açores, Ilhas Canárias, Arquipélago da Madeira: Madeira, Ilhas de Cabo Verde. **Atlântico noroeste tropical:** Barbados, Bermudas, Costa Rica, Jamaica, Pequenas Antilhas, Antilhas Holandesas, Trinidad e Tobago, Cuba, Ilhas Virgens (EUA), Venezuela. **Atlântico sudoeste tropical:** Brasil. **Atlântico noroeste temperado quente:** EUA: Carolina do Norte, Flórida. **Europa:** França, Espanha, Grécia, Itália. **África:** **Golfo da Guiné:** Camarões, Gabão, Gana. **África Ocidental:** Ilhas de Salvamento, Gâmbia, Senegal. **Oriente Médio:** Irã, Omã, Mar Vermelho. **Sudeste Asiático:** Filipinas. **Ásia:** Japão, Mar da China Meridional, Taiwan. **Austrália e Nova Zelândia:** Austrália, Austrália Ocidental. **Ilhas do Pacífico/Oceano Pacífico:** Ilhas do Noroeste do Havá (Guiry & Guiry 2022)

Plantas formando tufo densos, cartilaginosas em textura, de coloração marrom-vinácea, violácea a esverdeada, com 6,0-13 cm de altura (Figuras 29, 40, 42). Fixação ao substrato por um único apressório discóide (Figura 30), ramos estoloníferos e ramos laterais basais descendentes, fixos secundariamente por apressórios terminais. Eixos principais eretos cilíndricos, com 1000-2000 µm de diâmetro na porção mediana do talo (Figura 31). Ramificação variando de uniformemente densa desde a base da planta a esparsa, alterna-espiralada a irregular com 3 a 5 ordens de ramos. Ramos de primeira ordem longos atingindo até 10 cm de comprimento com o mesmo padrão de ramificação

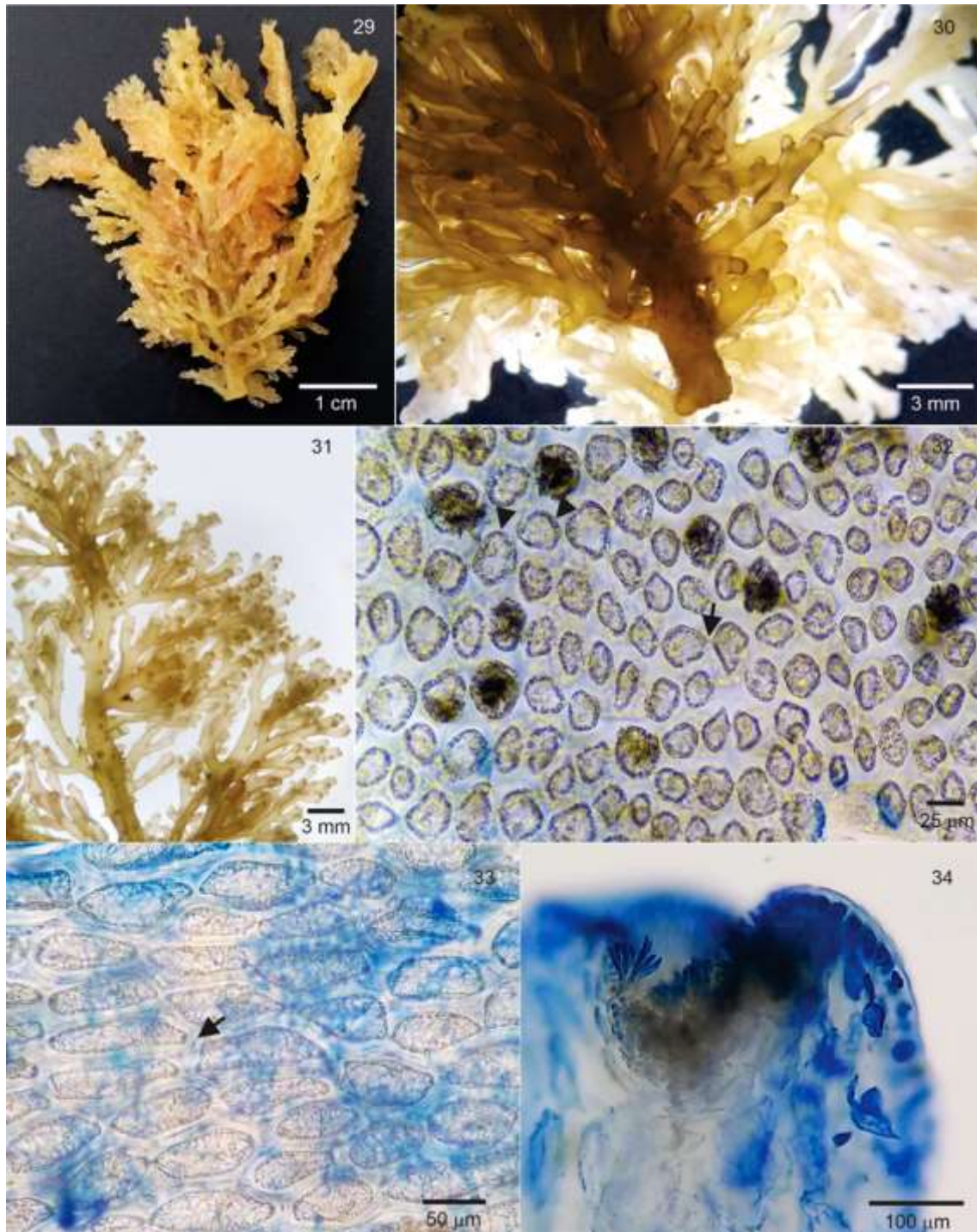
dos eixos principais. Râmulos de última ordem cilíndricos com ápice truncado, simples ou compostos, com $2000-3000 \times 475-625 \mu\text{m}$.

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente, com (1) 2-4 *corps en cerise* por célula (Figuras 32, 41, 43). Células corticais poligonais, isodiamétricas nas porções superiores do talo (Figura 32); arredondadas a longitudinalmente alongadas nas porções medianas (Figura 33), com $75-120 \times 25-80 \mu\text{m}$ e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Figura 34). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares incolores (Figura 35). Células corticais quadráticas, não arranjadas como paliçada, com $25-32,5 \times 25-37,5 \mu\text{m}$ na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com $75-125 \times 57,5-100 \mu\text{m}$ na porção mediana do talo. Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas sem espessamentos lenticulares (Figura 26). Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentrais ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas (Figura 36).

Plantas masculinas com râmulos férteis claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com $875-1500 \mu\text{m}$ de diâmetro, simples ou compostos (Figura 37). Espermatângios não observados. Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com $1250-2000 \times 400-550 \mu\text{m}$ (Figura 38). Tetrasporângios arranjados de forma paralela em relação ao eixo do râmulo fértil, tetraedicamente divididos, com $70-125 \mu\text{m}$ de diâm. (Figura 39). Plantas femininas não observadas.

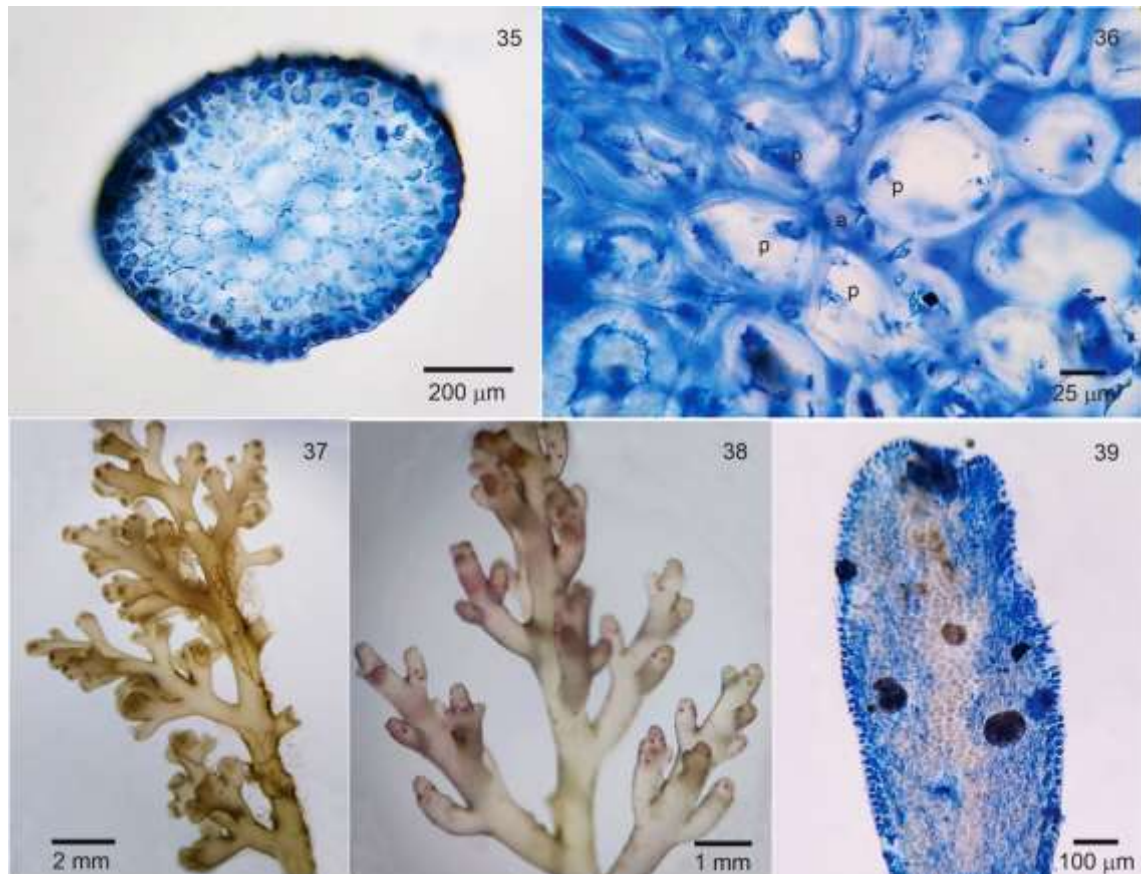
Material examinado: Venezuela, Estado Falcón, Puerto Escondido, 20/05/2015, S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Senties, M. Cordero, Y. García, J. Escobar (amostra 15), Punta Brava, 18/05/2015, S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Senties, M. Cordero, Y. García, J. Escobar (amostras 2 e 3); morfotipo *Laurencia scoparia*, Estado Nuova Esparta, Isla de Margarita, Bahía de Pampatar, 08/05/2015, A. Velásquez, M. Duque. **Outros**

exemplares sequenciados: 14, CH3, CH15, CH12, CH14, CH16, CH17, CH18, T1. (Tabela 6).

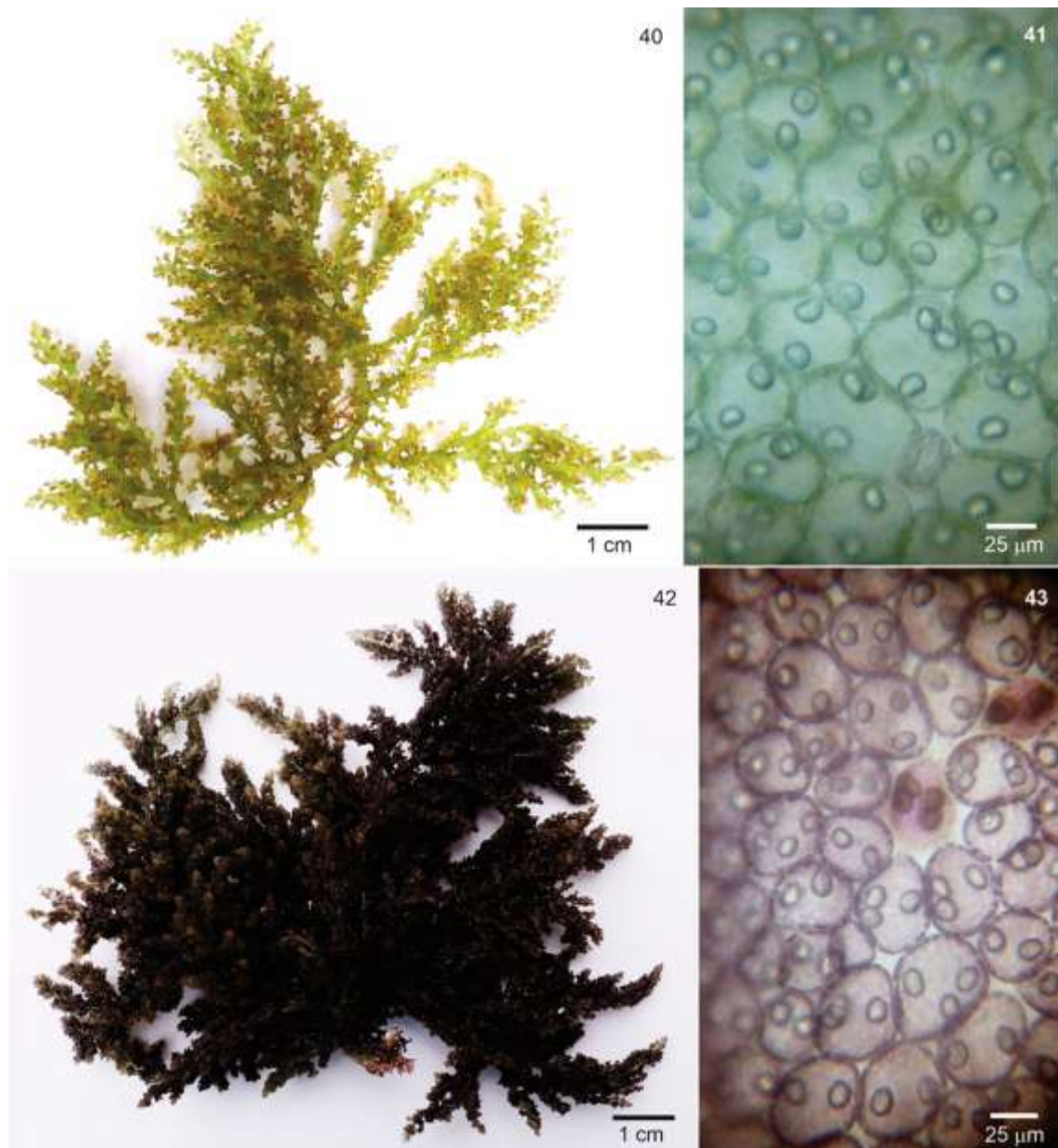


Figuras 29-34. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. **Figura 29.** Aspecto geral do talo. **Figura 30.** Detalhe da porção basal, evidenciando base piramidal e ramificação densa desde a base. **Figura 31.** Detalhe da porção apical. **Figura 32.** Vista superficial das células corticais da porção superior do talo mostrando ligações secundárias (seta) e *corps en cerise* (pontas de seta). **Figura 33.** Vista superficial das células corticais da porção

mediana do talo mostrando ligações secundárias (seta). **Figura 34.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice.



Figuras 35-39. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. **Figura 35.** Corte transversal do talo. **Figura 36.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a). **Figura 37.** Porção apical do talo mostrando ramos espermatangiais. **Figura 38.** Porção apical do talo mostrando ramos tetrasporangiais. **Figura 39.** Detalhe de um râmulo tetrasporangial com arranjo paralelo dos tetrasporângios.



Figuras 40-43. Espécimes de *Laurencia dendroidea*. **Figuras 40, 41.** Espécime vivo (amostra 2). **Figura 40.** Aspecto geral. **Figura 41.** Vista superficial mostrando células corticais com 2-3 *corps en cerise* por célula. **Figuras 42, 43.** Espécime vivo (amostra 3). **Figura 42.** Aspecto geral. **Figura 43.** Vista superficial mostrando células corticais com 2-4 *corps en cerise* por célula.

Comentários: O material estudado está de acordo com as características morfológicas de *L. dendroidea* descritas por Cassano *et al.* (2012b). *Laurencia dendroidea* exibe uma considerável plasticidade morfológica (Cassano *et al.* 2012b) como também foi verificado nos espécimes venezuelanos (Figuras 29, 40, 42). A ausência de espessamentos lenticulares e projeção da parede das células corticais no material venezuelano está dentro das variações descritas para a espécie, cujos espessamentos e projeção das células corticais podem estar presentes ou não em diferentes espécimes (Cassano *et al.* 2012b).

Esses autores, usando dados moleculares e morfológicos, verificaram que os táxons identificados para o Brasil como *L. arbuscula* Sonder, *L. obtusa*, *L. filiformis*, *L. majuscula*, *L. microcladia* e *L. scoparia* correspondiam a *L. dendroidea*, assim como espécimes identificados como *L. majuscula* das Ilhas Canárias, correspondendo todos a nomes mal aplicados para esses países. Recentemente, Popolizio *et al.* (2022) verificaram que espécimes atribuídos a *L. obtusa* nas Bermudas se revelaram *L. dendroidea* pelos resultados moleculares e argumentaram que, possivelmente, *L. obtusa* não está presente no Atlântico ocidental tropical. Igualmente nossos resultados demonstraram que *L. obtusa* da Venezuela corresponde à *L. dendroidea*.

Para a Venezuela, *L. dendroidea* foi reportada para os Estados Carabobo (Ardito 2013, Cordero 2016), Nueva Esparta (Rodríguez *et al.* 2013, Garrido & García 2017, Barrios-Montilla *et al.* 2021) e Miranda (Costilla 2019), assim como para outras localidades, como *L. scoparia* (Web Ficoflora Venezuela 2022), contudo, *L. obtusa* também é referenciada para a costa da Venezuela (Guiry & Guiry 2022, Web Ficoflora Venezuela 2022). Os espécimes descritos e ilustrados por Rodríguez de Ríos (1979) como *L. obtusa* claramente se enquadram na circunscrição de *L. dendroidea*, assim como os de Gómez *et al.* (2017). Nenhuma das amostras venezuelanas sequenciadas neste estudo para o *rbcL* são proximamente relacionadas com *L. obtusa* da Irlanda (região próxima à localidade tipo, Inglaterra), cuja divergência de *L. dendroidea* variou de 5,14-5,72%, indicando que essa espécie corresponde a um nome mal aplicado e deve ser removida da flora marinha venezuelana.

Laurencia filiformis é uma outra espécie referenciada para a Venezuela (Rodríguez de Ríos & Saito 1985, Lobo & Rodríguez de Ríos 1985, Ardito & García 2009, Ardito 2013, Canelon *et al.* 2014, Huapaya 2017, Costilla 2019). O sequenciamento

da autêntica *L. filiformis* da Austrália (localidade tipo) mostrou que esta espécie é distinta de *L. dendroidea* (Cassano *et al.* 2019), cuja sequência foi incluída nas nossas análises e que divergiu de *L. dendroidea* de 5,11-5,47%, confirmando que são espécies distintas.

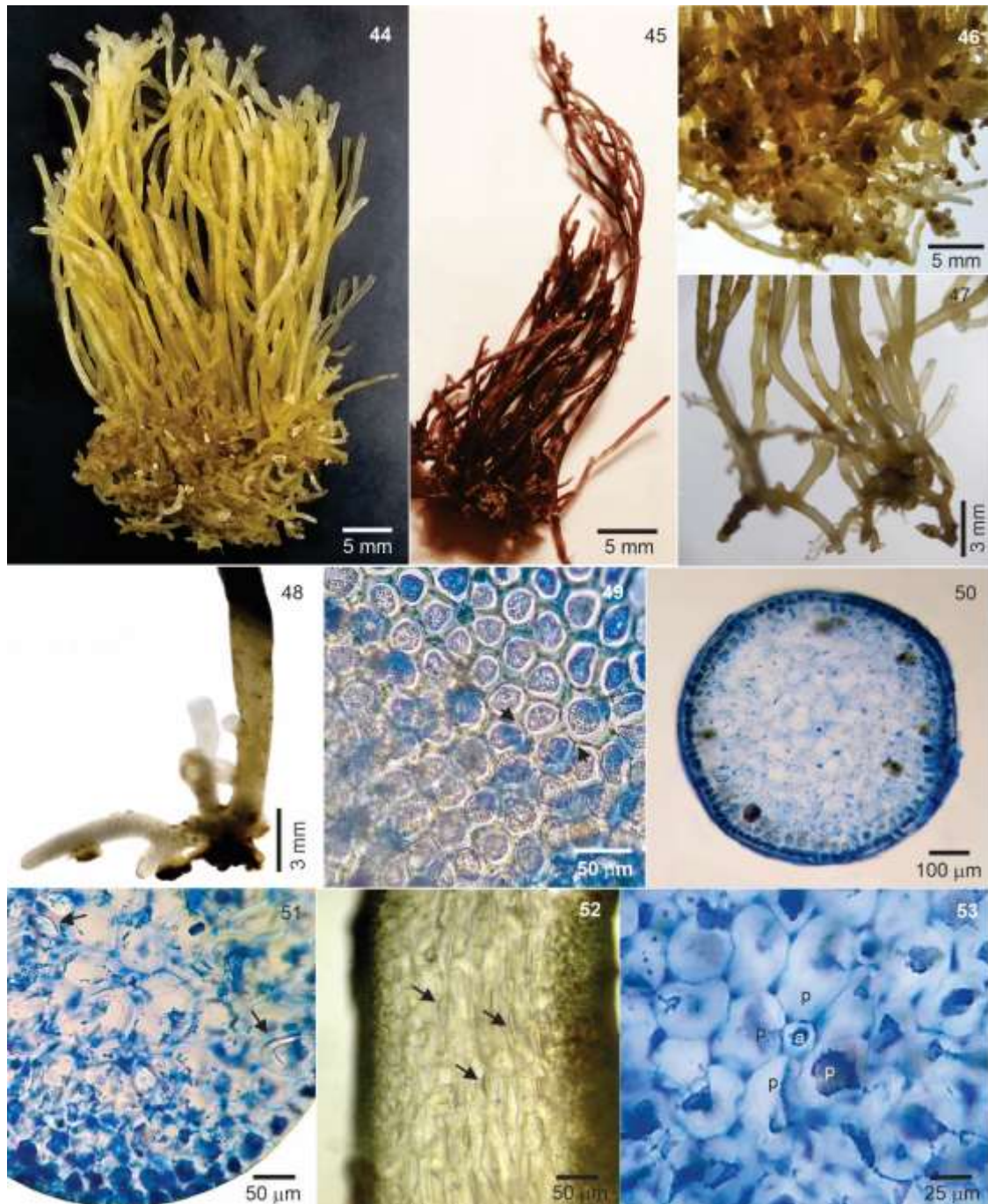
Rodríguez de Rios & Saito (1985) reduziram *Laurencia scoparia* a um sinônimo de *L. filiformis*. *Laurencia scoparia* é atualmente sinônimo heterotípico de *L. dendroidea*, cujas localidades síntipas são La Guaira, Venezuela e Brasil (Silva *et al.* 1996).

Uma amostra morfológicamente referida como *Laurencia scoparia*, procedente da Bahía de Pampatar, Isla de Margarita foi analisada neste estudo (Figuras 44-59). O espécime estudado de *L. scoparia* possui hábito muito distinto morfológicamente de *L. dendroidea*, cujo talo é cartilaginoso rígido, fixo por apressório discóide e por uma conspícua base estolonífera, fortemente emaranhada, fixa por apressórios menores; os eixos eretos são desnudos ou pouco ramificados na base e esparsamente ramificados no terço superior da planta; espessamentos lenticulares estão presentes nas paredes das células medulares e as células corticais não são projetadas além da superfície do talo (Figuras 44-59). Os isótipos de *L. scoparia* depositados no herbário do Museu Botânico de Lund (LD 36610, 36611, 36613), Suécia cujas imagens são reproduzidas aqui (fotografias dos tipos, Figuras 60-63), mostram espécimes similares ao coletado em Isla de Margarita. Essa amostra foi fornecida formolizada não sendo possível obter sequências de DNA para comparação com *L. dendroidea* da localidade tipo (Brasil) ou com *L. filiformis* da localidade tipo (Austrália). Apesar da grande variação morfológica observada em *L. dendroidea* (Cassano *et al.* 2012b), talos morfológicamente semelhantes ao de Isla de Margarita não foram encontrados no material brasileiro analisado por esses autores.

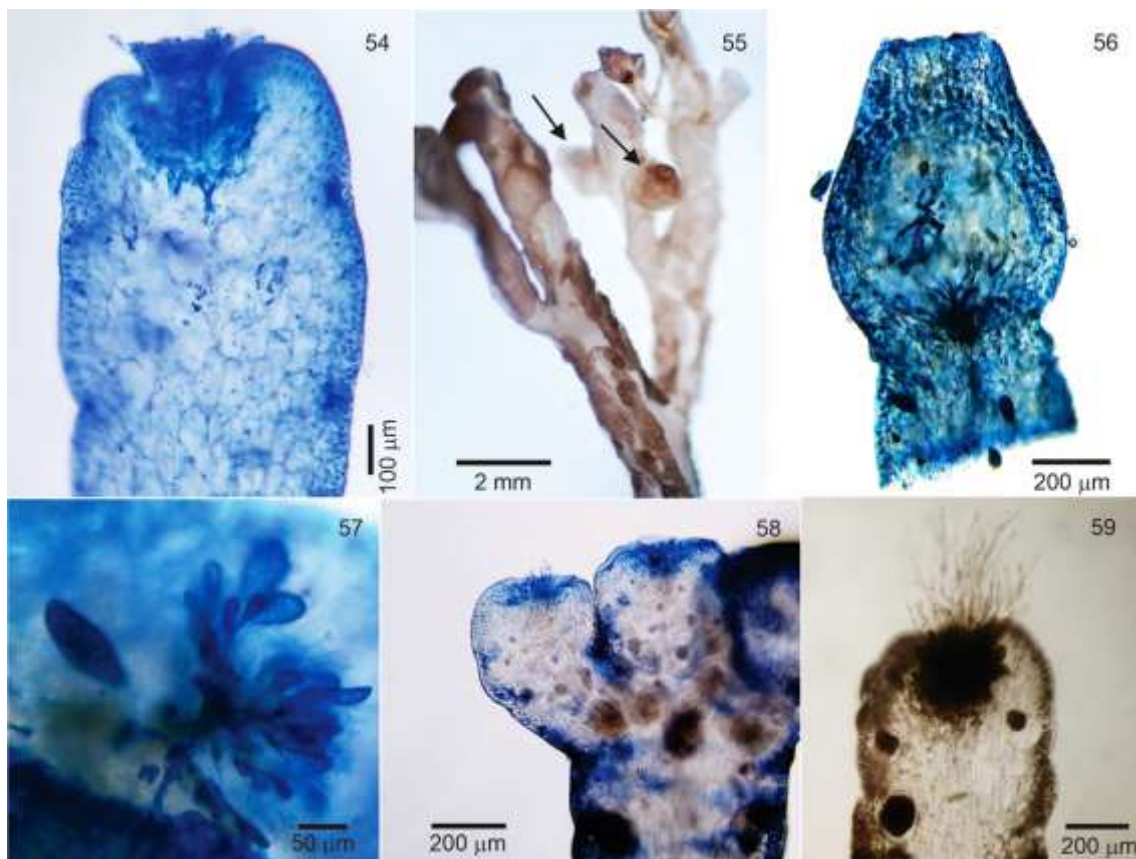
Comparações dos materiais-tipo de *Laurencia filiformis* e *L. dendroidea*, feitas por Cassano (2009) e Cassano *et al.* (2012b), mostraram que esses táxons são claramente distintos morfológicamente, especialmente em relação ao hábito das plantas, o que foi corroborado por dados moleculares a partir de sequências dos topótipos de ambas as espécies (Cassano *et al.* 2012b, Cassano *et al.* 2019). Os lectótipos de *L. filiformis* (LD 36488) e de *L. dendroidea* (LD 36668, 36669), depositados no Museu Botânico de Lund, Suécia (fotografias dos tipos, Figuras 64-67) e mostram que essas espécies são morfológicamente distintas dos isótipos de *L. scoparia* (Figuras 60-63), assim como do morfotipo *L. scoparia* analisado neste estudo (Figuras 44-59). Espécimes similares à

autêntica *L. filiformis* não foram encontrados nas nossas amostras da Venezuela, o que foi corroborado pela ausência de correspondência genética com o topótipo desta espécie incluído nas nossas análises de *rbcL*.

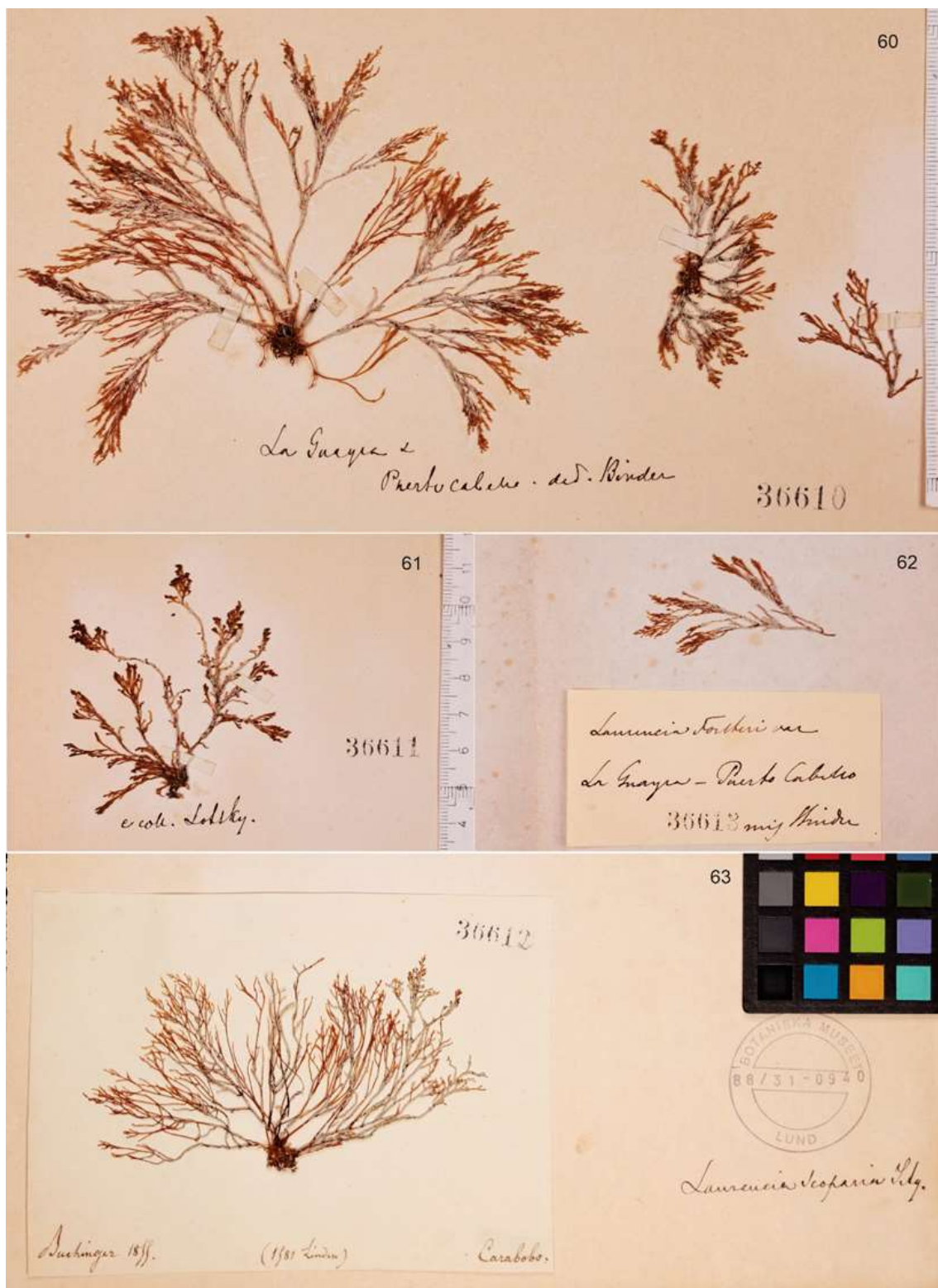
Laurencia scoparia necessita de um exame mais detalhado, incluindo novas amostragens, especialmente a partir de La Guaira, Venezuela, ou mesmo sequências dos materiais-tipo, para esclarecer seu *status* taxonômico, i.e., se a espécie é realmente um sinônimo heretotípico de *L. dendroidea* ou pode constituir uma espécie independente.



Figuras 44-53. Morfotipo de *Laurencia scoparia* J. Agardh. **Figura 44.** Aspecto geral do talo. **Figura 45.** Detalhe de uma porção do talo. **Figura 46.** Porção basal mostrando ramos estoloníferos emaranhados. **Figuras 47, 48.** Detalhes da base mostrando apressório discóide e ramos estoloníferos com apressórios menores. **Figura 49.** Vista superficial das células corticais da porção superior do talo mostrando ligações secundárias (setas). **Figura 50.** Corte transversal do talo. **Figura 51.** Detalhe de um corte transversal mostrando espessamentos lenticulares (setas). **Figura 52.** Corte longitudinal mostrando vários espessamentos lenticulares (setas). **Figura 53.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).



Figuras 54-59. Morfotipo de *Laurencia scoparia* J. Agardh. **Figura 54.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice. **Figura 55.** Detalhe de uma porção apical mostrando cistocarpos (setas). **Figura 56.** Detalhe do cistocarpo em corte longitudinal. **Figura 57.** Detalhe dos carposporângios. **Figura 58.** Porção apical do talo mostrando ramos tetrasporangiais. **Figura 59.** Corte longitudinal de um râmulo com tetrasporângios com arranjo paralelo.



Figuras 60-63. Fotografias dos isótipos de *Laurencia scoparia* J. Agardh depositados no Museu Botânico de Lund, Suécia. **Figura 60.** LD 36610, La Guayra & Puerto Cabello. det. Binder [written by J. Ag.]. **Figura 61.** LD 36611, e coll. Lotsky [written by J. Ag.]. **Figura 62.** LD 36613, *Laurencia Forsteri* var, La Guayra - Puerto Cabello, mis Binder [written by J. Ag.]. **Figura 63.** LD 36612, um espécime coletado posteriormente, Buchinger 1855 (1581 Linden) - Carabobo [written by Lenormand].



Figuras 64-67. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Lectótipo (LD 36668, 36669) depositado no Museu Botânico de Lund, Suécia. **Figura 64.** Hábito do talo (LD 36668). **Figura 65.** Detalhe dos râmulos (LD 36668). **Figura 65.** Hábito do talo (LD 36669). **Figura 67.** *Laurencia filiformis* (*Chondria filiformis* Herb. Agardh, Lund no. 23 'Cotê occid. N. Holl.'). Lectótipo (LD 36488) depositado no Museu Botânico de Lund, Suécia. Reproduzidos de Cassano (2009).

***Laurencia natalensis* Kylin, *Acta Universitatis Lundensis* 34(8): 1-26, 10 Figuras, 8 pls. 1938**

Basiônimo: *Laurencia obtusa* var. *natalensis* (Kylin) Børgesen

Localidade tipo: Praia de Isipingo, perto de Durban, África do Sul.

Figuras 68-78

Distribuição: **África:** África do Sul, Quênia, Ilhas Maurício, Madagascar, Moçambique. **Sudoeste da Ásia:** Sri Lanka. **Sudeste da Ásia:** Vietnã (Guiry & Guiry 2022). **América do Sul:** Venezuela (García-Soto & Lopez Bautista 2019).

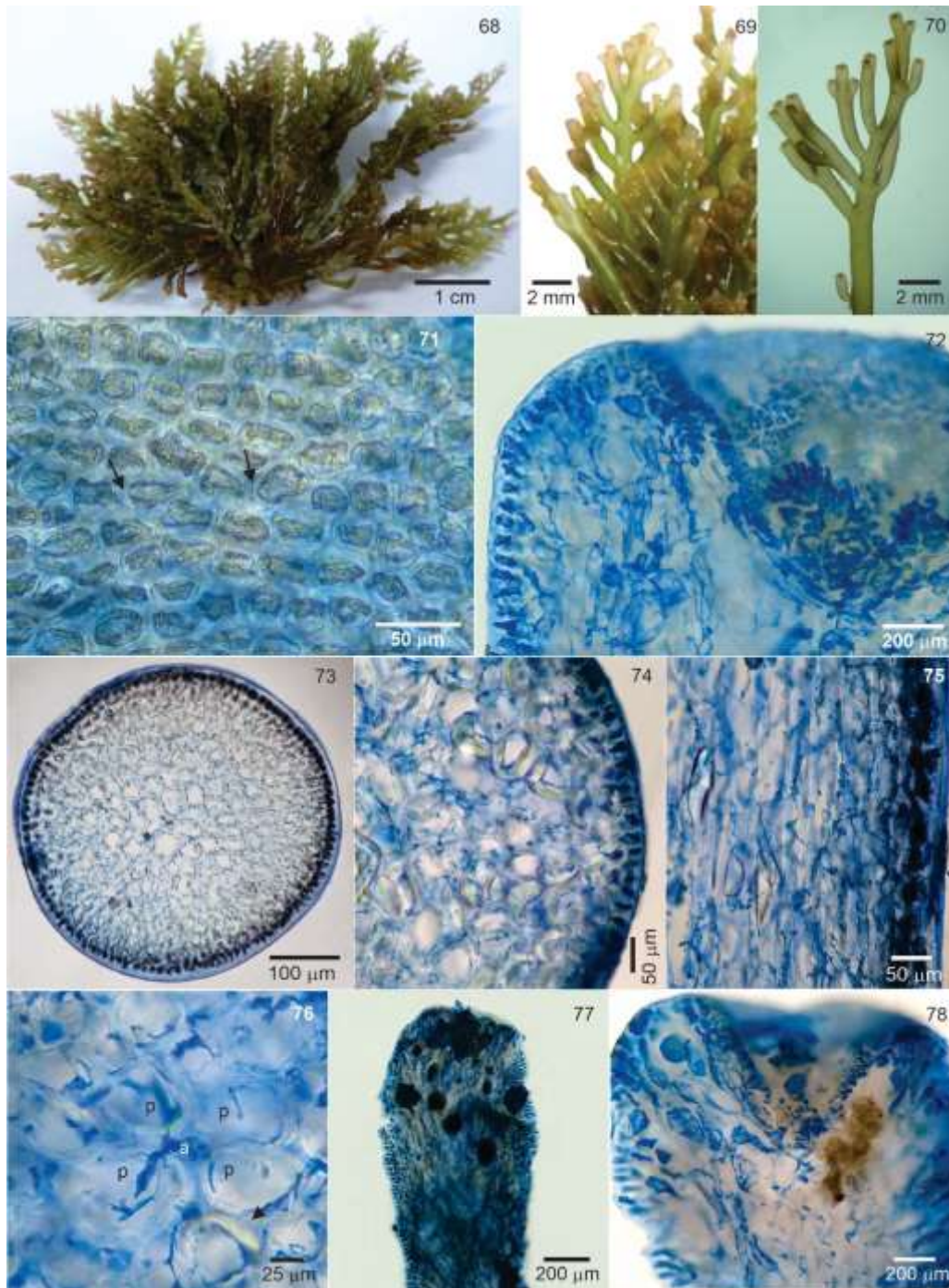
Plantas formando tufos, cartilaginosas rígidas em textura, de coloração esverdeada com ápices rosados (Figuras 68, 69) a marrom-esverdeado ou vermelho-esverdeado, com 4,5-6,2 cm de altura. Fixação por apressório discóide e ramos descendentes curtos, fixos por apressório terminais menores. Ramos eretos cilíndricos, com ramificação irregular-espiralada, distalmente tendendo a oposta dística, às vezes, unilateral (Figuras 69, 70) com até 3 ordens de ramos, 650-1000 µm de diâmetro na porção mediana do talo. Râmulos de última ordem cilíndricos com 750-1875 × 400-625 µm, reduzidos em comprimento gradualmente em direção ao ápice, dando um contorno piramidal ao talo (Figuras 68-70).

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Figura 71). Células corticais isodiamétricas a poligonais com 25-37,5 × 17,5-32,5 µm. nas porções medianas do talo, com um *corps en cerise* por célula. Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Figura 72).

Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e cinco a seis camadas de células medulares incolores (Figura 73). Células corticais quadráticas a isodiamétricas, não arranjadas como paliçada, com 17,5-30 × 15-22,5 µm na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 37-62,5 × 32,5-50 µm na porção mediana do talo. Abundantes espessamentos lenticulares presentes nas paredes das células medulares (Figuras 74, 75). Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentrais maiores que as células medulares circunvizinhas (Figura 76). Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com 1000- 1200 × 400-550 µm. Tetrasporângios arranjados de forma paralela em relação

ao eixo do râmulo fértil, tetraedicamente divididos, com 30-100 μm de diâm. (Figuras 77, 78).

Material examinado: Venezuela, Estado Vargas (La Guaira), Playa Vasito, 30/06/2012, *B. Vera, C. Moreno* (Amostra V1); Estado Miranda, Playa Los Corrales, 20/05/2015, *C. Pereira, V. Hernández* (Amostra CV3). **Outros exemplares sequenciados:** CH2, CH4, CH5, CH6, CH7a, CH8, CH9, CH10, CH11, RO, V3, V7C, B3, T4, T5, T12, T15, T16, T19, TARMA 1, TARMA 2, 22 (Tabela 6).



Figuras 68-78. *Laurencia natalensis* Kylin. **Figura 68.** Aspecto geral do talo. **Figura 69.** Detalhe da porção apical mostrando ramos tendendo a opostos. **Figura 70.** Detalhe da porção apical mostrando ramos tendendo a unilaterais. **Figura 71.** Vista superficial das células corticais da porção mediana do talo mostrando ligações secundárias (setas). **Figura 72.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice. **Figura 73.** Corte transversal do talo. **Figura 74.** Detalhe de um corte transversal mostrando abundantes espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares. **Figura 75.** Detalhe de um corte longitudinal mostrando espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares. **Figura 76.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a). Note espessamento lenticular (seta). **Figura 77.** Detalhe de um ramo tetrasporangial com

arranjo paralelo dos tetrasporângios. **Figura 78.** Corte longitudinal de um râmulo mostrando tetrasporângio.

Comentários: Morfológicamente, *Laurencia natalensis* é caracterizada, especialmente, pela coloração do talo, possuindo ápices vermelhos e eixos esverdeados, além do padrão de ramificação radial com contorno piramidal e presença de um único *corps en cerise* por célula cortical (Francis *et al.* 2017, García-Soto & López Bautista 2019). Contudo, a espécie apresenta variabilidade morfológica, com alguns espécimes venezuelanos descritos por García-Soto & López Bautista (2019) exibindo morfologia geral e coloração não típicas dos espécimes africanos descritos por Francis *et al.* 2017, como, por exemplo, ausência de contorno piramidal definido e coloração marrom-púrpura (Tabela 29).

García-Soto & López Bautista (2019) verificaram variação na coloração com talos reprodutivos maduros que eram distintamente verdes com ápices laranja-avermelhados, enquanto os espécimes imaturos vegetativos e esporofíticos apresentaram coloração marrom-púrpura. Diferenças na cor dos talos também foi observada no nosso material, sendo a coloração típica da espécie observada apenas em talos maduros potencialmente reprodutivos, embora os ápices apresentassem coloração rosada, não fortemente laranja-avermelhada como descrito por Francis *et al.* (2017) e García-Soto & López Bautista (2019). Espécimes esporofíticos apresentaram coloração tendendo ao marrom-esverdeado. Além disso, Kylin (1938) em sua descrição original, reporta ramificação densa e irregular (não radial) e ausência de espessamentos lenticulares, os quais foram observados abundantemente no material estudado, assim como nos descritos por García-Soto & López Bautista (2019). Os râmulos com padrão de ramificação quase oposta também é coincidente com os espécimes de García-Soto & López Bautista (2019). Contudo, ramos terminais cilíndricos, às vezes, formando pequenos lobos foram descritos por Kylin (1938) e ramos com aparência "lobada", a que Kylin se referiu, foram descritos por García-Soto & López Bautista (2019) para ramos tetrasporangiais, agrupados em aglomerados, com coloração avermelhada. Ramos lobados não foram observados no nosso material (Tabela 29). A plasticidade morfológica apresentada por *L. natalensis* pode indicar que a espécie pode ter sido confundida em estudos prévios na área estudada, especialmente com *L. dendroidea*, já que alguns exemplares podem apresentar hábito semelhante com contorno piramidal e eixos de coloração esverdeada com ápices rosados. A semelhança de *L. natalensis* com *L. dendroidea* e possíveis identificações equivocadas

também foi destacada por García-Soto & López Bautista (2019) ao registrarem ramos paralelos aos eixos e ramificações marcadamente curvadas para fora em exemplares *L. natalensis*, descritos para alguns espécimes de *L. dendroidea* do Brasil (Cassano *et al.* 2012b). Ramos paralelos e ramificações curvadas não observados nos nossos espécimes.

Laurencia natalensis era citada apenas para o Oceano Índico, sendo referida pela primeira vez para o Oceano Atlântico a partir de material coletado na Venezuela em Cabo San Roman, Península de Paraguaná, Estado Falcón (García-Soto & López Bautista 2019). Nossa amostragem na costa venezuelana expandiu a distribuição da espécie no Estado Falcón, registrando sua ocorrência em Puerto Cumarebo, além do estado Vargas, em Taguao e Chichiriviche de La Costa. A espécie parece ser mais comum na costa venezuelana do que se suspeitava, como revelado pelos dados moleculares. *Laurencia natalensis* apresenta uma distribuição disjunta ocorrendo nos oceanos Índico e Atlântico; neste último, até o momento, a espécie é referida apenas para a Venezuela.

Tabela 29. Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. natalensis* da África do Sul (localidade tipo) e Venezuela.

Espécie	Padrão de ramificação	Ramos terminais	Espessamento lenticular	Referência
<i>L. natalensis</i> África do Sul	Padrão de ramificação	-	ausente	Kylin (1938)
<i>L. natalensis</i> África do Sul	Densa e irregular (não radial)	lobados	-	Francis <i>et al.</i> (2017)
<i>L. natalensis</i> Venezuela	Radial com contorno piramidal / paralelos aos eixos e ramificações marcadamente curvadas para fora	lobados (tetraesporangios)	abundante	Garcia-Soto & Lopez-Bautista (2019)
<i>L. natalensis</i> Venezuela	Radial com contorno piramidal	-	abundante	Este estudo

***Laurencia aff. microcladia* Kützing, *Tabulae phycologicae*: 22, pl. 60: Figuras b, c. 1865.**

Localidade tipo: Índias Ocidentais (Ilhas do Caribe)

Figuras 79-94

Distribuição: Ilhas Atlânticas: Açores, Bermudas, Ilhas Canárias, Ilhas de Cabo Verde, Madeira, Ilhas Selvagens. **Europa:** Mar Adriático, Apúlia, Ilhas Baleares, Córsega, França, Grécia, Itália, Malta, Sardenha. **América do Norte:** Flórida, México (Caribe). **América Central:** Belize, Costa Rica, Panamá. **Ilhas do Caribe:** Bahamas, Ilhas Caicos, Caribe, Ilhas Cayman, Cuba, Hispaniola, Jamaica, Pequenas Antilhas, Martinica, Antilhas Holandesas, Trinidad e Tobago, Ilhas Virgens (EUA). **Atlântico Ocidental:** América do Sul: Venezuela. **África:** Argélia, Mauritânia, Marrocos, Senegal. **Oriente Médio:** Chipre, Egito, Mar Vermelho, Turquia. **Sudoeste da Ásia:** Golfo Pérsico. **Sudeste da Ásia:** Cingapura, Vietnã. **Ásia:** Mar da China Meridional. **Oceano Pacífico: Ilhas do Pacífico:** Polinésia Central, Arquipélago Samoano (Guiry & Guiry 2022)

Plantas formando pequenos tufos delicados, carnosas em textura, de coloração esverdeada com ápices rosados, com até 5 cm de altura (Figuras 79-82). Eixos eretos originados de apressório discóide e de ramos estoloníferos, formados a partir das porções inferiores do talo, fixos ao substrato por diversos apressórios discóides menores distribuídos ao longo dos ramos estoloníferos (Figura 83). Eixos principais eretos, cilíndricos, com ramificação irregular espiralada, esparsa no terço inferior do talo, oposta a unilateral com aspecto piramidal ou com ramos muito agrupados dando uma aparência verticilada no terço superior do talo, até 4 ordens de ramos, 150-650 µm de diâm. nas porções medianas do talo (Figuras 79-82). Râmulos de última ordem claviformes, simples ou compostos, com 120-450 µm de diâm. (Figuras 84, 85).

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente, com um único *corps en cerise* por célula (Figura 86). Células corticais subquadráticas a poligonais nas porções superiores do talo; mais alongadas longitudinalmente nas porções medianas, 30-60 × 15-50 µm.

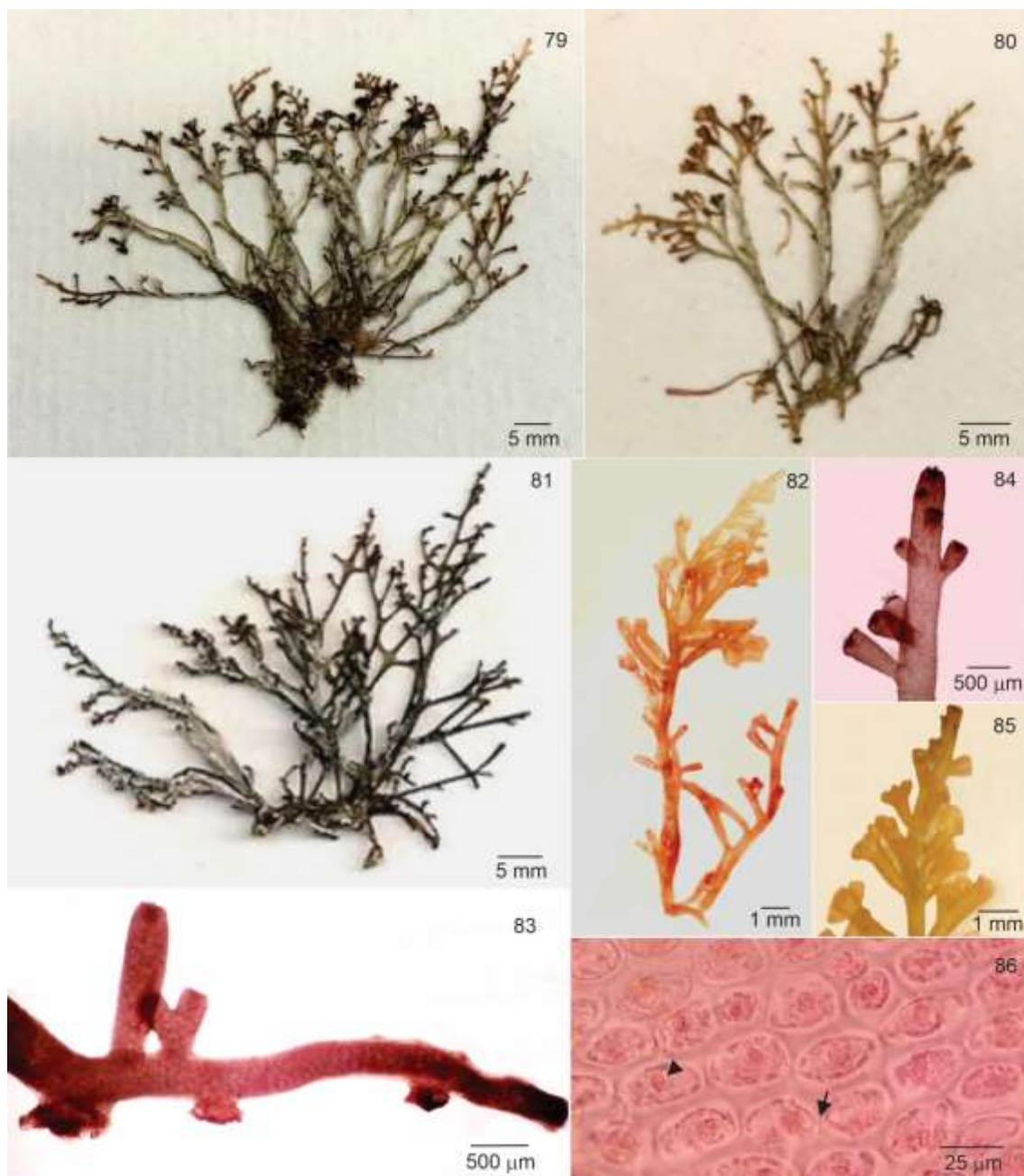
Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Figura 87). Células corticais

quadráticas, não arrançadas como paliçada, com $12,5-30 \times 15-25 \mu\text{m}$ na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com $25-70 \times 15-50 \mu\text{m}$ na porção mediana do talo. Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentraes ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas (Figura 88). Espessamentos lenticulares não observados.

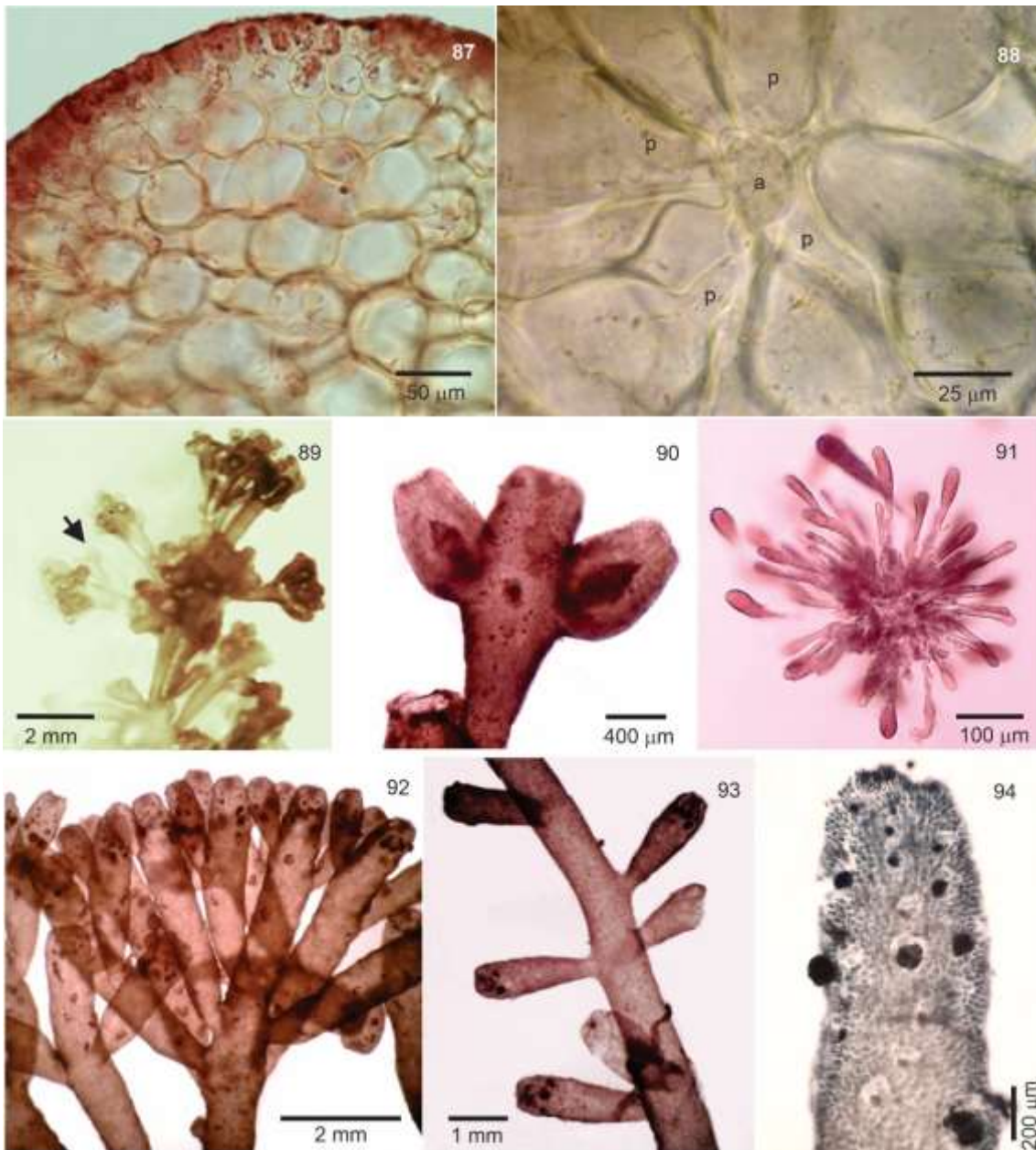
Plantas femininas com cistocarpos piriformes, proeminentes no talo, dispostos subapicalmente nos râmulos, com $400-610 \mu\text{m}$ de diâm., sem ostíolo proeminente (Figuras 89, 90). Carposporângios cuneiformes alongados com $52,5-150 \times 27,5-50 \mu\text{m}$ (Figura 91).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, às vezes com base constricta, com $800-4050 \times 500-700 \mu\text{m}$ (Figuras 92, 93). Tetrasporângios com arranjo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Figura 94). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com $50-85 \mu\text{m}$ de diâm. Plantas masculinas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Vargas (La Guaira), Los Caracas, 28/06/2011, *B. Vera* (LC3), Puerto Azul, 17/06/2014, *A. Brito*, *B. Vera* (PA8), (PA2).



Figuras 79-86. *Laurencia* aff. *microcladia* Kützing. **Figuras 79-81.** Aspecto geral de talos herborizados. **Figura 82.** Aspecto geral de uma porção da planta. **Figura 83.** Ramo estolonífero com apressórios discóides. **Figuras 84, 85.** Detalhe dos ramos. **Figura 86.** Vista superficial das células corticais mostrando ligações secundárias (seta) e um *corpus en cerise* por célula (ponta de seta).



Figuras 87-94. *Laurencia* aff. *microcladia* Kützing. **Figura 87.** Corte transversal do talo. **Figura 88.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a). **Figura 89.** Porção apical de uma planta feminina com cistocarpos (seta). **Figura 90.** Detalhe dos cistocarpos. **Figura 91.** Detalhe dos carposporângios. **Figuras 92, 93.** Detalhe dos ramos tetrasporangiais. **Figura 94.** Detalhe de um râmulo tetrasporangial com arranjo paralelo dos tetrasporângios.

Comentários: Nossos espécimes de *Laurencia* aff. *microcladia* estão de acordo com a descrição prévia dessa espécie para a Venezuela fornecida por Rodríguez de Ríos (1979) e pela recente descrição de espécimes das Ilhas Virgens Americanas e das Bermudas de Popolizio *et al.* (2022), especialmente pelo hábito com padrão de ramificação oposta a unilateral com aspecto piramidal e ramos agrupados com aparência verticilada. A fixação do talo por ramos estoloníferos também é coincidente com a descrição dos espécimes venezuelanos de Rodríguez de Ríos (1979), embora falte nos espécimes de Popolizio *et al.* (2022). A coloração distinta dos ápices observada nos nossos espécimes também foi descrita por Popolizio *et al.* (2022), embora com coloração mais intensa, vermelho-púrpura. Ápices com coloração distinta do restante do talo não foram observados em *L. microcladia* de Rodríguez de Ríos (1979) (Tabela 30).

A presença de abundantes espessamentos lenticulares nos espécimes venezuelanos de Rodríguez de Ríos (1979) não foi observada nos nossos espécimes, tampouco nos de Popolizio *et al.* (2022) (Tabela 30). A variação morfológica observada na fixação do talo, coloração dos ápices e presença ou ausência de espessamentos lenticulares entre os espécimes da Venezuela e das ilhas do Caribe pode ocorrer dentro de uma mesma espécie ou entre espécies diferentes (Cassano 2009).

Popolizio *et al.* (2022) caracterizaram *L. microcladia* morfológica e molecularmente incluindo sequências de ITS, COI-5P e *rbcL* de espécimes das Bermudas e Saint Croix, Ilhas Virgens Americanas, esta última localizada no extremo norte das Índias Ocidentais (ilhas do Caribe), que representa a localidade tipo da espécie (Kützing 1865). Nossas sequências formaram um subclado bem sustentado pela maioria das análises, dentro de um clado maior que uniu as sequências de *L. microcladia*, incluindo o topótipo, e *L. caduciramulosa* pelo COI-5P, além de *L. venusta* e o topótipo de *L. laurahuertana* pelo *rbcL* (Figuras 3, 4). A similaridade morfológica e a baixa divergência, a níveis intraespecíficos para os dois marcadores, entre as nossas sequências e *L. microcladia* (1,75-1,96%, COI-5P; 0,57-0,77%, *rbcL*) indicariam que correspondem à mesma espécie. Porém, pela indefinição de todo esse clado com baixa divergência entre todas as espécies e pelo posicionamento das nossas sequências em um subclado, denominamos nossos espécimes de *L. aff. microcladia*, evitando a parafilia de *L. microcladia*.

Tabela 30. Comparação das características morfológicas encontradas nos espécimes de *L. microcladia* das Bermudas e Ilhas Virgens e *L. aff. microcladia* da Venezuela.

Espécie	Padrão de ramificação	Fixação	Espessamento lenticular	Referência
<i>L. microcladia</i> Venezuela	Oposta a unilateral com aspecto piramidal e ramos agrupados com aparência verticilada	Ramos estoloníferos	abundante	Rodriguez de Rios (1979)
<i>L. microcladia</i> Ilhas Virgens e Bermudas	Oposta a unilateral com aspecto piramidal e ramos agrupados com aparência verticilada	-	ausente	Popolizio <i>et al</i> (2022)
<i>L. aff. microcladia</i> Venezuela	Oposta a unilateral com aspecto piramidal e ramos agrupados com aparência verticilada	Ramos estoloníferos	ausente	Este estudo

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

Basiônimo: *Laurencia flagellifera* J. Agardh (1852)

Sinônimo homotípico: *Chondrophyucus flagelliferus* (J. Agardh) K.W. Nam 1999

Localidade tipo: Indonésia

Figuras 95-108

Distribuição: Ilhas Atlânticas: Bermudas, Ilhas Canárias, Cuba, Trinidad e Tobago.

Europa: Espanha (incluindo Ilhas Canárias). **América do Norte:** México (Caribe).

América do Sul: Brasil. **Sudoeste da Ásia:** Índia. **Sudeste da Ásia:** Filipinas. **Ilhas do**

Oceano Índico: Ilha Rodrigues. **Austrália e Nova Zelândia:** Ilha Norfolk. **Ilhas do**

Pacífico/Oceano Pacífico: Ilhas Salomão (Guiry & Guiry 2022)

Plantas formando tufos densos, cartilaginosas rígidas em textura, de coloração marrom-violácea, marrom-esverdeada a marrom-escura, com até 11,5 cm de altura (Figuras 95, 96). Fixação por apressório discóide e ramos laterais basais descendentes,

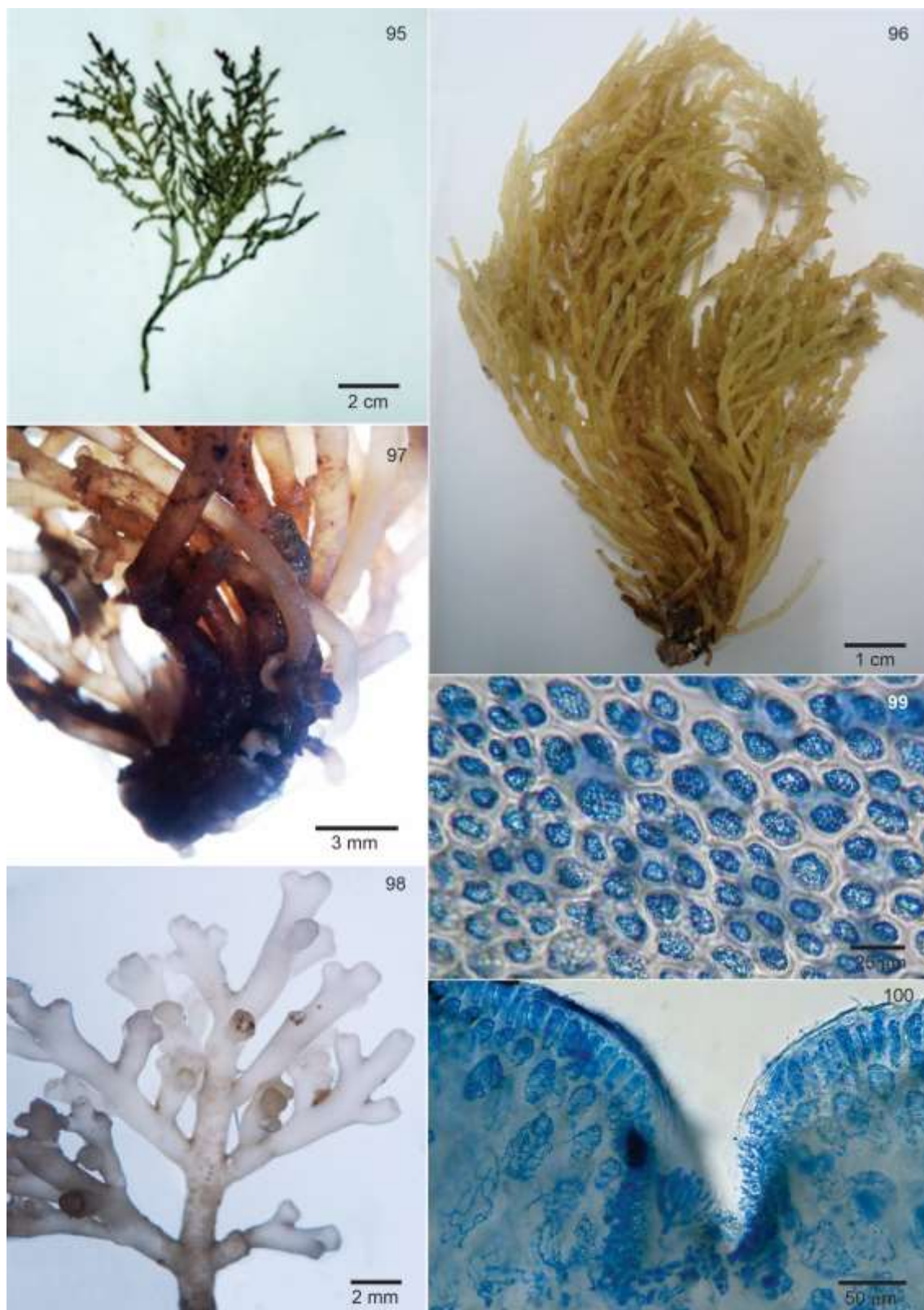
fixos secundariamente por apressórios terminais (Figura 97). Eixos eretos cilíndricos, desnudos ou pouco ramificados na base e mais densamente ramificados no terço superior da planta, com ramificação alterna-espiralada a irregular com até 4 ordens de ramos, com 1250-1625 μm de diâmetro na porção mediana do talo (Figuras 95, 96). Râmulos de última ordem cilíndricos a clavados, curtos e compostos ou longos e isolados, com 1000-2250 \times 750-1125 μm (Figura 98).

Em vista superficial, células corticais poligonais, isodiamétricas nas porções superiores e medianas do talo, com 17,5-35 \times 12,5-25 μm , e poligonais alongadas nas porções inferiores. Ligações secundárias entre as células corticais adjacentes ausentes (Figura 99). *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Figura 100). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Figura 97). Células corticais externas radialmente alongadas e arrançadas como paliçada (Figuras 98, 99), com 30-50 \times 12,5-20 μm na porção mediana dos eixos principais. Células medulares arredondadas diminuindo gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 75-157,5 \times 65-125 μm . Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas sem espessamentos lenticulares (Figuras 100, 101). Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentrais ligeiramente menores que as medulares circunvizinhas (Figura 100).

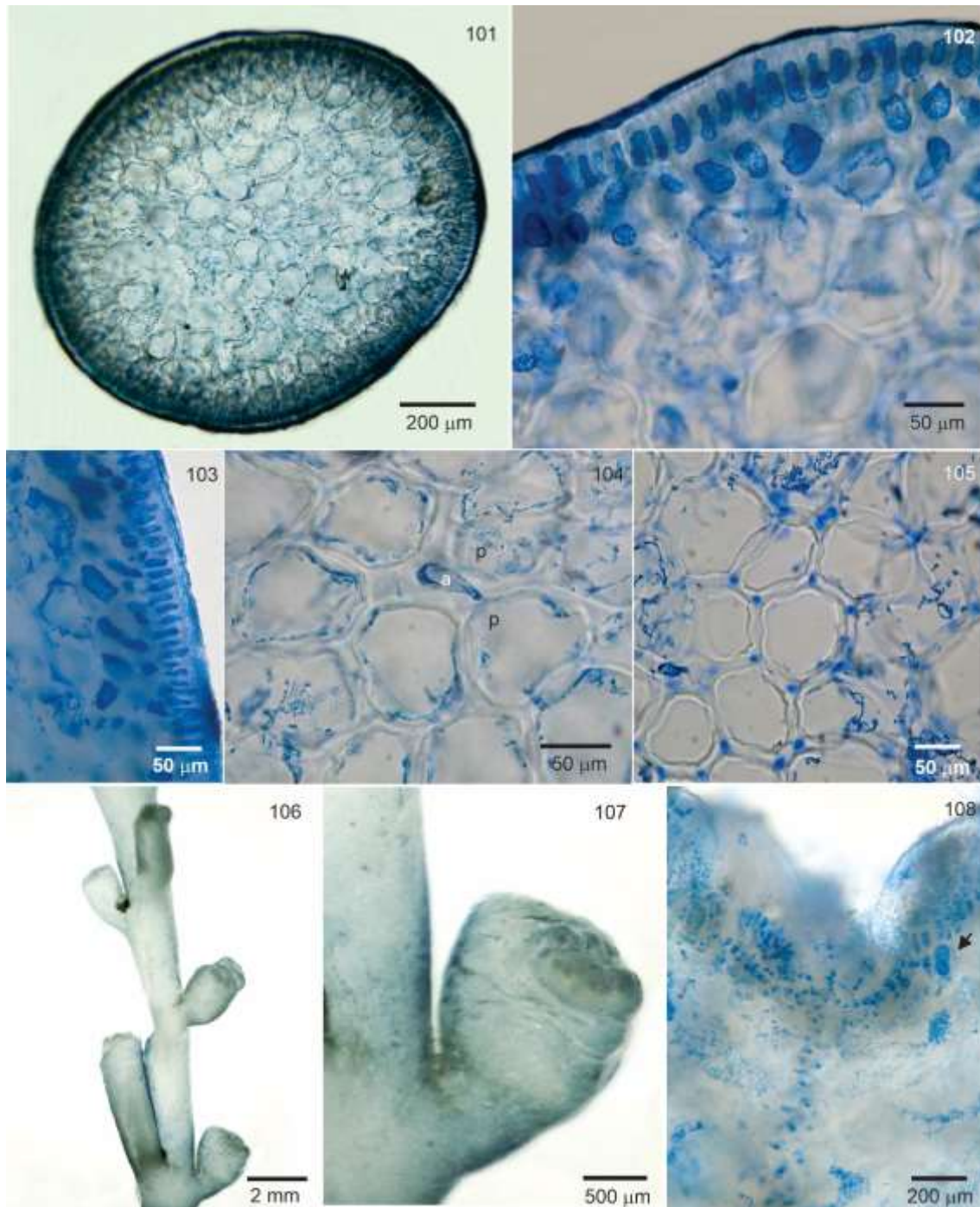
Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com 800-2000 \times 650-1000 μm (Figura 102). Tetrasporângios arrançados em ângulo reto em relação ao eixo do râmulo fértil, tetraedicamente divididos, com 60-80 μm de diâmetro (Figuras 103, 104). Plantas femininas e masculinas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Falcón, Tumatéy, 20/05/2015, *S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Sentés, M. Cordero, Y. García, J. Escobar* (Amostra 18).

Outros exemplares sequenciados: Amostra 17 (Tabela 6).



Figuras 95-100. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam. **Figura 95.** Aspecto geral do talo de um exemplar herborizado. **Figura 96.** Aspecto geral do talo. **Figura 97.** Porção basal do talo. **Figura 98.** Detalhe dos ramos. **Figura 99.** Vista superficial das células corticais sem ligações secundárias. **Figura 100.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice.



Figuras 101-108 *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam. **Figura 101.** Corte transversal do talo. **Figura 102.** Detalhe de um corte transversal mostrando células corticais com arranjo em paliçada. **Figura 103.** Detalhe de um corte longitudinal mostrando células corticais com arranjo em paliçada. **Figura 104.** Detalhe de um corte transversal mostrando célula axial (a) com duas células pericentrais (p). **Figura 105.** Detalhe de um corte transversal mostrando paredes das células medulares com espessamento uniforme. **Figura 106.** Detalhe dos ramos tetrasporangiais. **Figura 107.** Detalhe de um ramo tetrasporangial com arranjo em ângulo reto dos tetrasporângios. **Figura 108.** Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial. Note tetrasporângio imaturo (seta).

Comentários: *Palisada flagellifera* foi citada pela primeira vez para a Venezuela por Solé *et al.* (2010, como *Chondrophyucus flagelliferus*) em uma análise florística a partir de material coletado em Playa La Mula, Península de Macanao, Isla de Margarita, Nueva Esparta, sendo reportada sua ocorrência sem uma descrição morfológica. Os espécimes analisados estão de acordo com outras descrições da espécie para o Atlântico: México (Senties & Fujii 2002), Brasil (Fujii *et al.* 2006, Cassano 2009) e Ilhas Canárias, Espanha (Gil-Rodríguez *et al.* 2010, 2012).

A espécie foi caracterizada por Nam (1999) por uma combinação de características vegetativas e reprodutivas, como células corticais alongadas e arranjadas em paliçada, sem ligações secundárias entre elas, duas células pericentraes por segmento axial vegetativo, presença de uma célula estéril no segmento tetrasporangial e tetrasporângios dispostos em ângulo reto. Entretanto, essas características são compartilhadas com *P. perforata*, espécie com a qual *P. flagellifera* possui com maior afinidade filogenética (Fujii *et al.* 2006, Cassano 2009, Gil-Rodríguez *et al.* 2010). Embora, ambas possuam uma célula estéril no segmento tetrasporangial, *P. flagellifera* desenvolve duas células pericentraes adicionais férteis, enquanto *P. perforata*, apenas uma (Cassano 2009, Cassano *et al.* 2009), uma característica de difícil visualização e que não foi possível observar nos espécimes venezuelanos. Contudo, essas espécies são facilmente diferenciadas pelo hábito, com ramificação mais esparsa em *P. flagellifera* e presença de ramos papiliformes em *P. perforata*, ausentes em *P. flagellifera*, cujos ramos são cilíndricos (Cassano 2009). Com base nos dados moleculares do COI-5P, nós reportamos *P. flagellifera* para a Venezuela seguindo o conceito molecular atual para essa espécie, embora não haja sequências do topótipo (Indonésia) para comparação.

Palisada corallopsis (localidade tipo Havana, Cuba) é uma outra espécie reportada para a Venezuela (Taylor 1960, Rodríguez de Ríos 1979 e Ganesan 1989, como *Laurencia corallopsis* (Montagne) M. Howe, Ardito 2013) com semelhanças morfológicas com *P. flagellifera*, compartilhando a presença de células corticais em paliçada, sem ligações secundárias, duas células pericentraes por segmento axial vegetativo e tetrasporângios arranjados em ângulo reto. No entanto, as espécies diferem pelo padrão e densidade de ramificação, mais densa de aspecto dístico com ramos curtos agrupados de aspecto corimboso em *P. corallopsis* (Rodríguez de Ríos 1979, Senties & Fujii 2002, Fujii & Senties 2005). Nenhuma das nossas amostras de *Palisada* possui características morfológicas de *P. corallopsis* e nenhuma sequência gerada neste estudo

se agrupou com *P. corallopsis* do Genbank (México). Portanto, nós não pudemos confirmar a ocorrência de *P. corallopsis* na Venezuela por dados morfológicos ou moleculares.

***Palisada aff. perforata* 1 (Bory) K.W. Nam, *Algae* 22(2): 53-55. 1 Tabela. 2007**

Basiônimo: *Fucus perforatus* Bory (1803)

Sinônimos homotípicos: *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (1840); *Chondrophycus perforatus* (Bory) K.W. Nam (1999).

Sinônimos heterotípicos: *Fucus papillosus* Forsskål (1775), *nom. illeg* (homônimo posterior de *Fucus papillosus* S.G. Gmelin 1768); *Chondria papillosa* C. Agardh (1822); *Laurencia papillosa* (C. Agardh) Greville (1830); *Laurencia obtusa* var. *papillosa* (C. Agardh) Bertoloni (1862), *Laurencia vaga* Kützinger (1863), *Chondrophycus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J.T. Harper (1998); *Palisada papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam (2007).

Localidade tipo: Santa Cruz de Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha

Figuras 109-119

Distribuição: **Ilhas do Atlântico:** Ascensão, Ilhas Canárias, Ilhas de Cabo Verde, Trindade e Martim Vaz, Cuba, Guadalupe, Martinica. **Europa:** Mar Adriático, Apúlia, Mar Negro, Crimeia, França, Espanha. **América do Norte:** Golfo da Califórnia, México, México (Atlântico). **América do Sul:** Brasil, Venezuela. **África:** Madagascar, Marrocos, Sudão. **Ilhas do Oceano Índico:** Reunião. **Oriente Médio:** Chipre, Egito, Irã, Kuwait, Omã, Turquia. **Sudoeste da Ásia:** Golfo Pérsico. **Sudeste da Ásia:** Indonésia, Filipinas, Cingapura, Vietnã. **Ásia:** China (Ilha de Hainan), Japão, Coreia, Mar da China Meridional, Ilha Yonaguni. **Austrália e Nova Zelândia.** **Oceano Pacífico:** **Ilhas do Pacífico:** Polinésia Central, Polinésia Francesa, Ilhas do Noroeste do Havai.

Plantas formando tufo densos, cartilaginosas rígidas em textura, de coloração marrom-esverdeada, com até 9,5 cm de altura (Figura 109). Fixação por apressório discóide do qual partem ramos decumbentes, com 750-1250 µm de diâmetro, fixos secundariamente por rizóides ou apressórios discóides menores (Figura 110). Eixos eretos cilíndricos com ramificação alterna-espiralada a irregular com 2-3 ordens de ramos, com

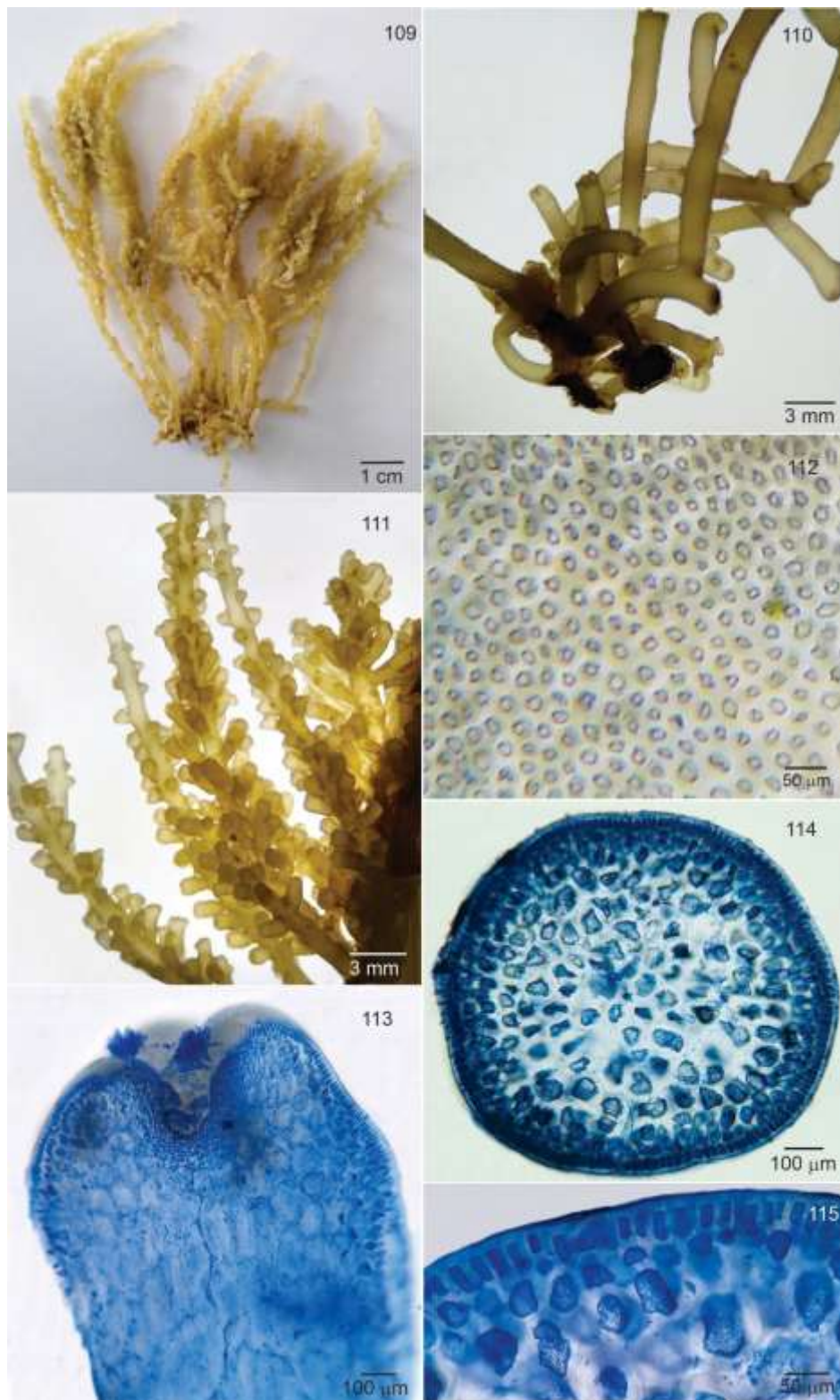
1250-1750 μm de diâmetro nas porções medianas do talo. Râmulos de última ordem cilíndricos ou clavados a papiliformes com $750-2500 \times 625-950 \mu\text{m}$ (Figura 111).

Em vista superficial, células corticais ligeiramente alongadas radialmente nas porções superiores do talo; poligonais, isodiamétricas nas porções medianas, com $15-25 \times 10-22,5 \mu\text{m}$, e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Ligações secundárias entre as células corticais adjacentes ausentes (Figura 112). *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Figura 113). Em corte transversal, talo com uma ou duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Figura 114). Células corticais quadráticas a radialmente alongadas e arranjadas como paliçada (Figura 115), com $25-37,5 \times 12,5-37,5 \mu\text{m}$ na porção mediana dos eixos principais. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, diminuindo gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com $42,5-100 \times 50-105 \mu\text{m}$ na porção mediana dos eixos principais. Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas espessamentos lenticulares ausentes. Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentraes (Figura 116).

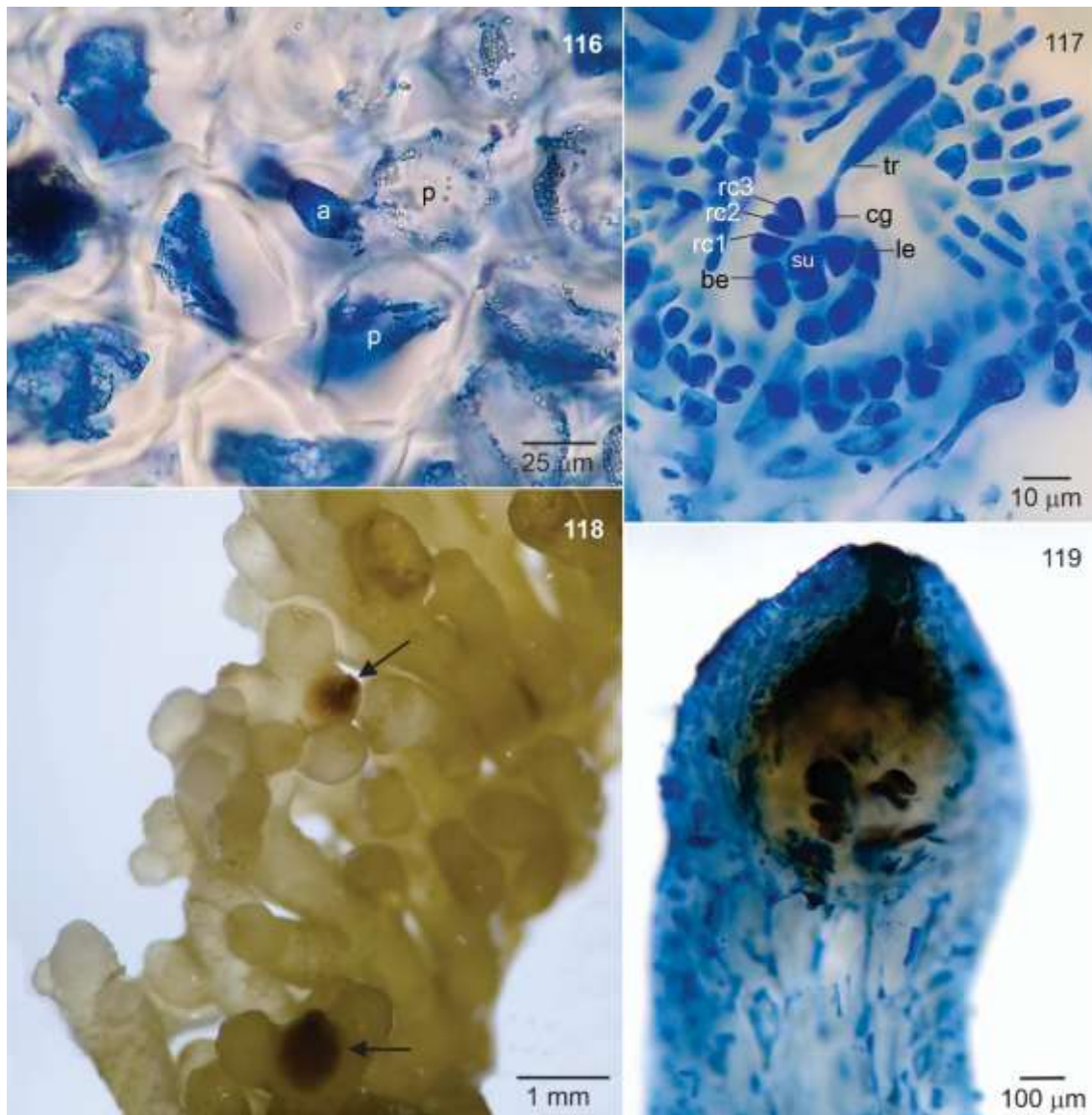
Plantas femininas com ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Figura 117). Cistocarpos piriformes, parcialmente imersos no talo e dispostos subapicalmente nos râmulos, com $700-800 \mu\text{m}$ de diâm., com ostíolo não proeminente (Figura 118). Carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com $42,5-100 \mu\text{m} \times 25-62,5 \mu\text{m}$ (Figura 119). Plantas masculinas e tetraspóricas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Falcón, Tumatéy, 20/05/2015, S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Senties, M. Cordero, Y. García, J. Escobar (Amostra 20)

Outros exemplares sequenciados: AG1, SR2, CV4, CV5, 16, 21, T14, T18, T22. (Tabela 6).



Figuras 109-115. *Palisada* aff. *perforata* 1 (Bory) K.W. Nam. **Figura 109.** Aspecto geral do talo. **Figura 110.** Detalhe da porção basal do talo. **Figura 111.** Detalhes dos ramos. **Figura 112.** Vista superficial da porção apical do talo mostrando células corticais sem ligações secundárias. **Figura 113.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice. **Figura 114.** Corte transversal do talo. **Figura 115.** Detalhe de um corte transversal mostrando células corticais com arranjo em paliçada.



Figuras 116-119. *Palisada* aff. *perforata* 1 (Bory) K.W. Nam. **Figura 116.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentrais (p) e célula axial (a). **Figura 117.** Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3) e carpogônio, cg); tricogine (tr); célula lateral estéril (le); célula basal estéril (be). **Fig. 118.** Detalhe da porção apical da planta feminina mostrando ramos com cistocarpos (setas). **Figura 119.** Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarp.

Comentários: Os espécimes venezuelanos estudados se enquadram morfológicamente na ampla circunscrição de *P. perforata* fornecida por Cassano *et al.* (2009), quando a coespecificidade entre *P. papillosa* e *P. perforata* foi proposta com base no gene *rbcL*. Originalmente, *Palisada perforata* era diferenciada de *P. papillosa* pela morfologia externa, tendo *P. perforata* o talo em “turf”, com ramos decumbentes, arqueados com pequenos apressórios terminais para fixação secundária e ramificação unilateral, enquanto *P. papillosa* possui o talo em forma tufo isolados, fixos por ramos estoloníferos e ramificação radial (Nam 2006). Internamente, o arranjo em paliçada das células corticais era considerado diagnóstico para a separação das espécies, presente em *P. perforata* e ausente em *P. papillosa* (Nam 2006), entretanto, essa característica foi desconsiderada como diagnóstica por Cassano (2009) que, pelo exame do isótipo de *Fucus papillosus* (LD 36784), verificou que essa característica é variável com ramos apresentando ou não células corticais em paliçada. Além disso, as diferenças no hábito, em “turf” de *P. perforata* ou em tufo isolados de *P. papillosa* foram relacionadas às condições ambientais, cujas espécies, reconhecidamente polimórficas, podem assumir a morfologia de “turf” com hábito pequeno formando tapetes, quando expostas à forte ação das ondas no mesolitoral (Senties & Fujii 20025, Fujii & Senties 2005).

Cassano (2009) também verificou que o sistema basal usado para separar as espécies é variável, com ramos semelhantes a estolão ausentes em alguns espécimes de *P. papillosa* e cujos ramos basais originados das porções inferiores dos eixos eretos, podem assumir um hábito arqueado e se fixar por apressórios secundários menores, como ocorre em *P. perforata*. Esta última também pode apresentar ramos estoloníferos, portanto, a distinção morfológica entre *P. perforata* e *P. papillosa* pode ser extremamente difícil.

As análises filogenéticas realizadas por Cassano *et al.* (2009) com o gene *rbcL* resolveram *P. perforata*-*P. papillosa* como monofilético com baixa variação genética entre as sequências da Espanha (Ilhas Canárias), Brasil, México e EUA (Flórida), constituindo uma mesma entidade taxonômica. O mesmo resultado foi verificado no nosso estudo, cujas sequências de *rbcL* da Venezuela, Espanha, México e Brasil mostraram baixa divergência (0-0,76%), indicando que todas constituiriam uma única entidade taxonômica, resultado que não foi corroborado pelo COI-5P.

Dentre as espécies referidas para a Venezuela, nossos espécimes se assemelham à *Palisada intermedia sensu* Rodríguez de Ríos (1979), cuja descrição inclui: base com ramos estoloníferos coalescentes, com numerosos apressórios discoides, eixos nús ou

frouxos na porção inferior do talo; em plantas adultas, os râmulos são papiliformes e podem cobrir quase completamente os ramos da porção superior do talo e as células corticais possuem arranjo em paliçada, entretanto, Rodríguez de Ríos (1979) salientou que o próprio autor da espécie, Yamada (1931, como *Laurencia intermedia*), reconheceu a similaridade morfológica entre essa espécie e *P. papillosa* (como *Laurencia papillosa*) que, em alguns casos, pode apresentar râmulos papiliformes na porção superior dos ramos. Por outro lado, a descrição de ramificação paniculada, oposta ou suboposta alterna, ocasionalmente verticilada ou sub-verticilada dada por Rodríguez de Ríos (1979) e Nam (2011) para espécimes de *P. intermedia*, discorda do nosso material. A comparação das ilustrações de *P. intermedia* da Venezuela (Rodríguez de Ríos 1979) e da Coreia do Sul (Nam 2011), reproduzidas nas Figuras 120 e 121, mostram espécimes distintos, sendo os nossos mais similares ao de Rodríguez de Ríos (1979).

Não foi possível comparar molecularmente nossos espécimes com *P. intermedia*, pois há uma única sequência de *rbcL* desta espécie [como *Chondrophyucus intermedius* (Yamada) Garbary & J.T. Harper] procedente da Coreia do Sul (Yang & Boo, não publicado), que se posicionou dentro de *Laurencia s.s.* e foi excluída das nossas análises. Desta forma, nós optamos em não denominar nossos espécimes como *P. intermedia* ou *P. aff. intermedia* pela falta de sequências dessa espécie e também pela impossibilidade de examinar as coleções de herbário de Rodríguez de Ríos para uma comparação morfológica mais acurada.

Morfológicamente, nossos espécimes venezuelanos não estão em conformidade com plantas típicas de *P. perforata*, i.e., em “turf” com ramos arqueados e ramificação unilateral, mas sim com o conceito ampla da espécie (Cassano *et al.* 2009), e divergiram molecularmente do topótipo das Ilhas Canárias, Espanha de 3,6% a 4,1% pelo COI-5P (valores considerados interespecíficos), assim como foram separadas do topótipo por todos os SDM empregados. O esclarecimento do *status* taxonômico desses espécimes depende da obtenção de sequências das localidades tipos de *P. papillosa* (Mar Vermelho) e de *P. intermedia* (Japão) para diferentes marcadores. Assim, a citação de *P. intermedia* para a Venezuela não pôde ser confirmada e nós optamos em denominar nossos espécimes como *P. aff. perforata* 1.

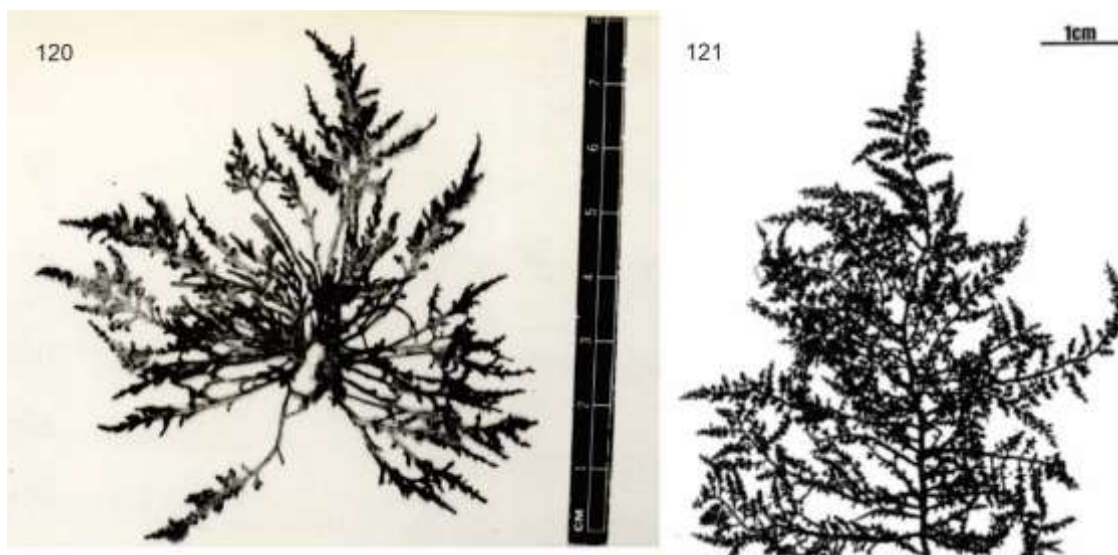


Figura 120. *Laurencia intermedia* Yamada, reproduzida de Rodríguez de Ríos (1979).

Figura 121. *Palisada intermedia* (Yamada) K.W. Nam, reproduzida de Nam (2011).

Palisada aff. perforata 2

Figuras 122-129

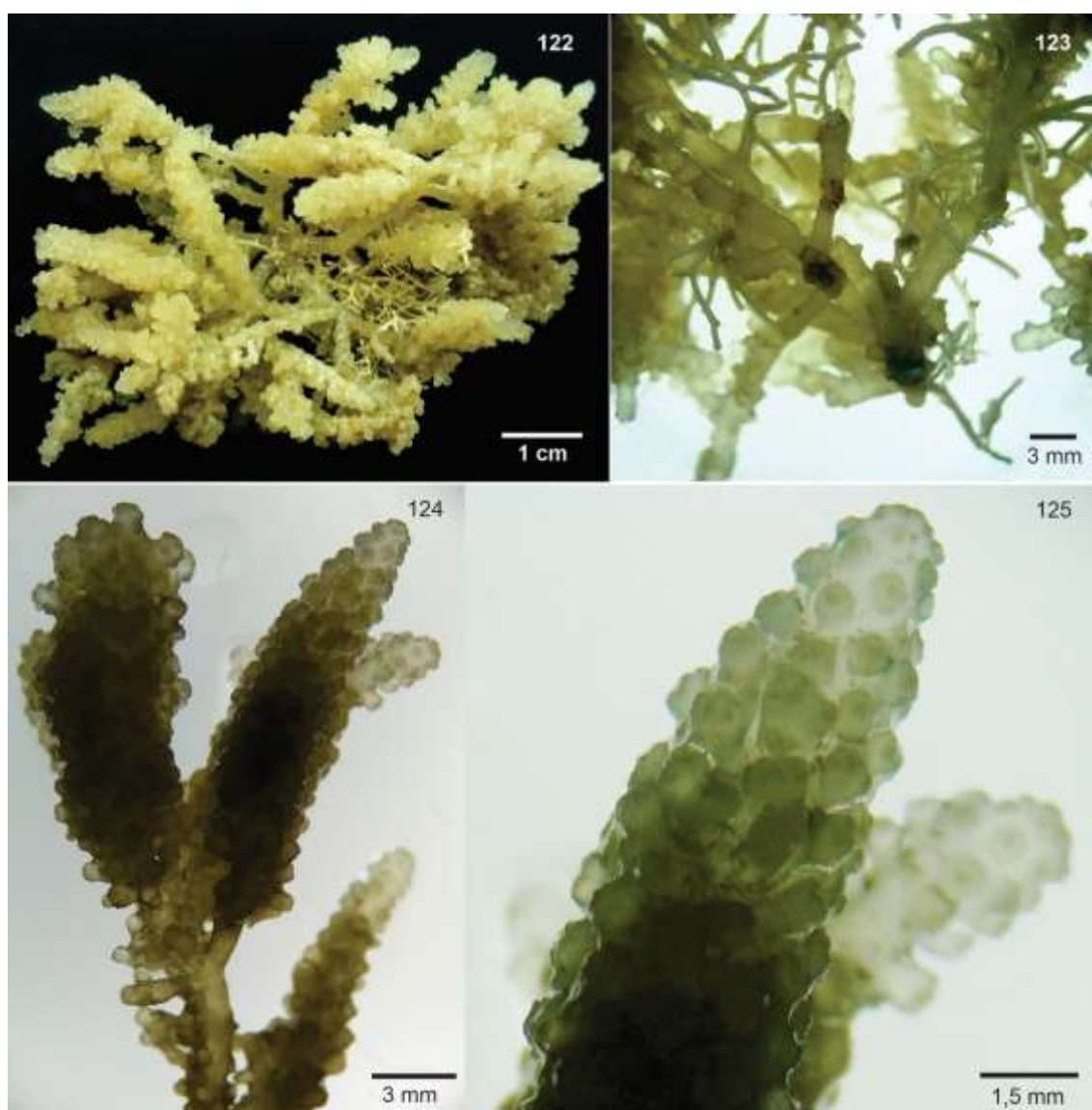
Plantas formando tufo densamente agrupados, cartilaginosa rígida em textura, de coloração púrpura-avermelhada a acastanhada, com 3,5-5,0 cm de altura (Figura 122). Fixação por ramos estoloníferos com apressórios discóides (Figura 123). Eixos eretos cilíndricos, com ramificação alterna-espiralada a irregular com 3-5 ordens de ramos, com 1250-1375 μm de diâmetro nas porções medianas do talo. Râmulos de última ordem papiliformes densamente dispostos, clavados ou cilíndricos com 625-1000 \times 500-875 μm (Figuras 124, 125).

Em vista superficial, células corticais ligeiramente alongadas radialmente nas porções superiores do talo; poligonais, isodiamétricas nas porções medianas, com 37,5-45 \times 25-37,5 μm , e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Ligações secundárias entre as células corticais adjacentes ausentes. *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Figura 126). Em corte transversal, talo com uma ou duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Figura 127). Células corticais quadráticas a radialmente alongadas e arranjadas como paliçada, com 32,5-37,5 \times 12,5-22,5 μm na porção mediana dos eixos principais (Figura 128). Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, diminuindo gradativamente de

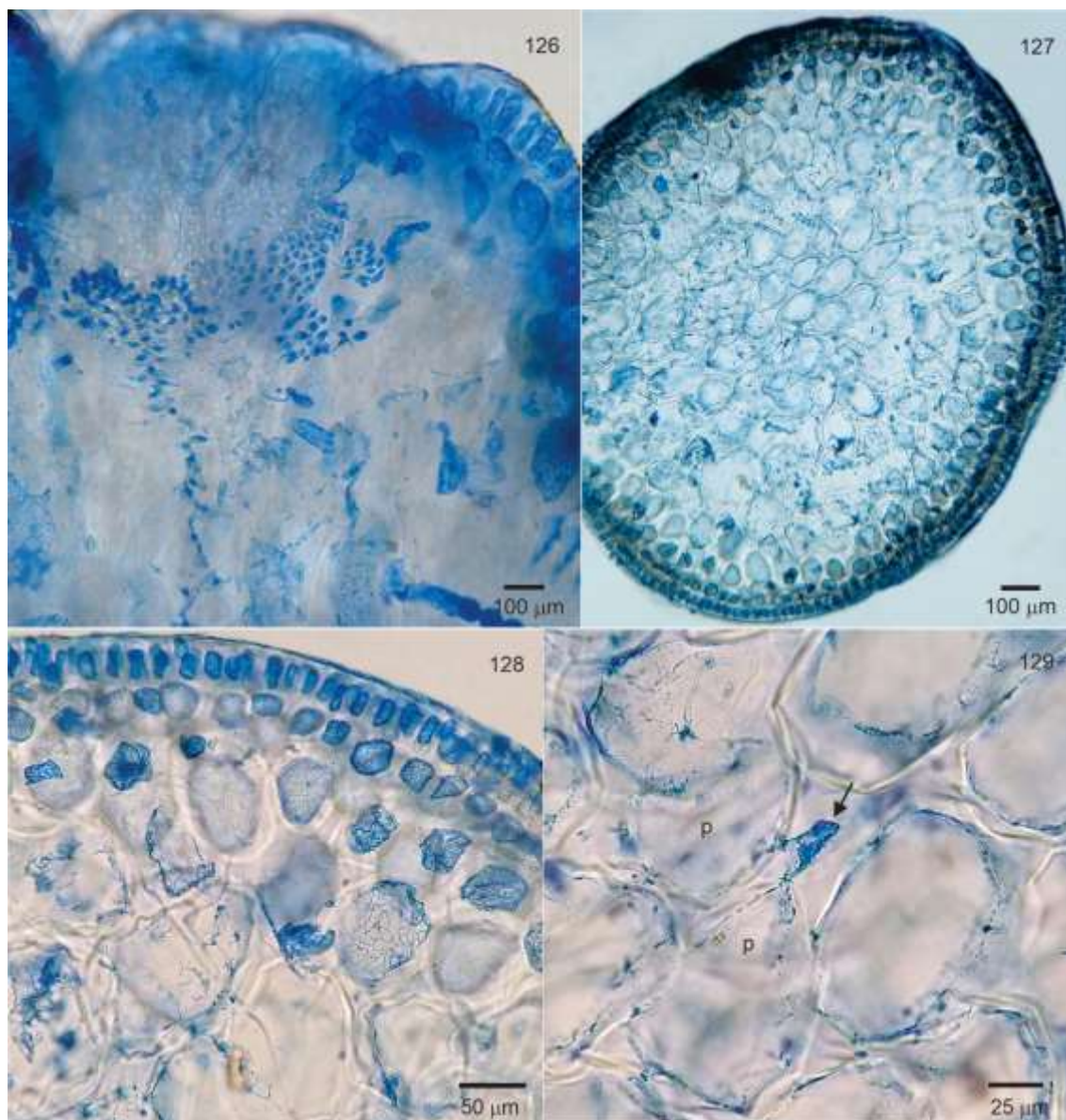
tamanho em direção ao centro do talo, com $87,5-137,5 \times 75-112,5 \mu\text{m}$ na porção mediana dos eixos principais. Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas sem espessamentos lenticulares. Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentrais (Figura 129). Plantas femininas, masculinas e tetraspóricas não observadas.

Material examinado: Venezuela, Estado Falcón, Cayo Sal, 19/05/2015. *leg.* S. Ardito, M.T. Fujii, V. Cassano, A. Senties, M. Cordero, Y. García, J. Escobar (Amostra 12).

Outros exemplares sequenciados: 5, 4, 13. (Tabela 6).



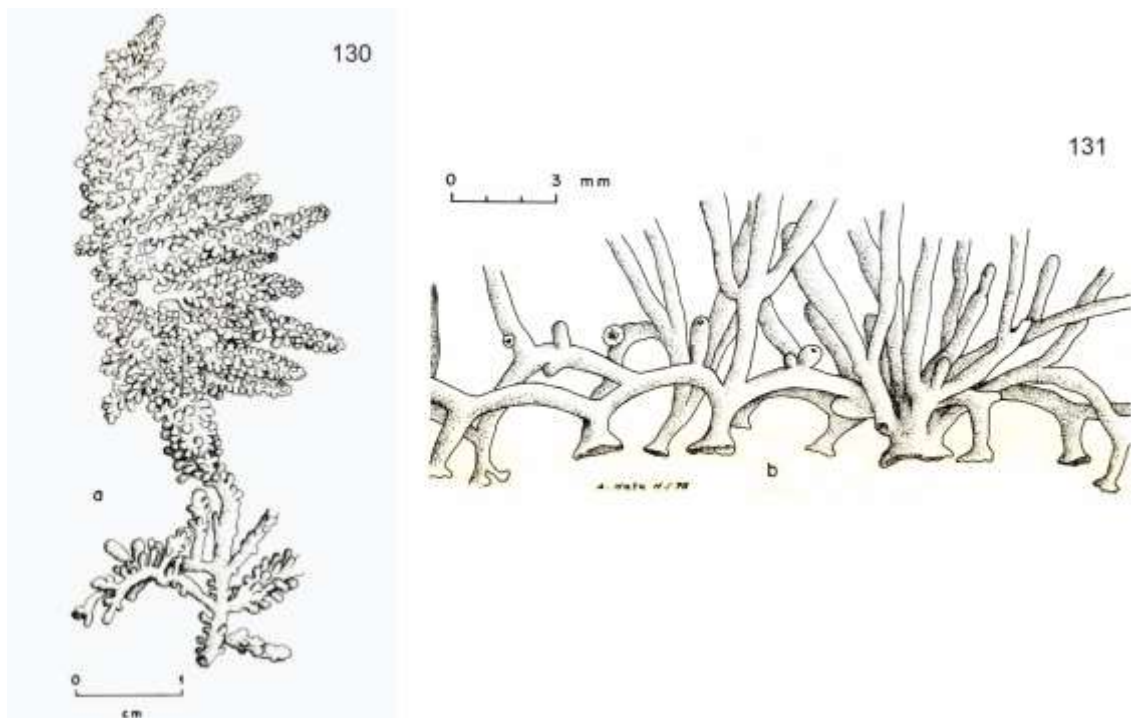
Figuras 122-125. *Palisada* aff. *perforata* 2 (Bory) K.W. Nam. **Figura 122.** Aspecto geral do talo. **Figura 123.** Detalhe da porção basal do talo. **Figuras 124-125.** Detalhes dos râmulos papiliformes.



Figuras 126-129. *Palisada* aff. *perforata* 2 (Bory) K.W. Nam. **Figura 126.** Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice. **Figura 127.** Corte transversal do talo. **Figura 128.** Detalhe de um corte transversal mostrando células corticais com arranjo em paliçada. **Figura 129.** Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentrais (p) e célula axial (seta).

Comentários: Os espécimes de *P.* aff. *perforata* 2 se enquadram nas características morfológicas de *P.* “*papillosa*” pela base estolonífera conspícua e inúmeros râmulos papiliformes densamente agrupados (Nam & Saito 1991, Fujii & Senties 2005). Contudo, com uma variação morfológica reconhecida, Furnari *et al.* (2001) descreveram para os espécimes do Mar Mediterrâneo, apressório discoide e ramos estoloníferos curtos, embora os ramos eretos fossem densamente recobertos por râmulos papiliformes. O

material estudado está plenamente de acordo com *P. "papillosa" sensu* Rodríguez de Ríos (1979), cujas ilustrações do talo e da base são reproduzidas aqui (Figuras 130, 131). As análises com o COI-5P e os SDM empregados resolveram as sequências desses espécimes da Venezuela/Bermudas (linhagem SSH18) como distinta dos demais (*P. aff. perforata* 1, SSH20), com uma divergência de 3,29 a 3,45%, e do topótipo das Ilhas Canárias, Espanha (linhagem SSH19), com uma divergência de 3,83-4,0%. Apesar desses resultados, a definição e posicionamento filogenético da autêntica *P. "papillosa"* demanda o sequenciamento do topótipo (Mar Vermelho), indisponíveis no GenBank.



Figuras 130-131. *Laurencia papillosa* (C. Agardh) Greville, reproduzida de Rodríguez de Ríos (1979). **Figura 130.** Aspecto geral do talo. **Figura 131.** Detalhe da base estolonífera.

6 DISCUSSÃO

Tradicionalmente, as espécies do complexo *Laurencia* foram delimitadas a partir de estudos da morfologia externa e anatômicos, o que acarretou nomes mal aplicados e citações equivocadas em diversas parte do mundo (Fujii & Senties 2005, Cassano *et al.* 2012b, Popolizio *et al.* 2022, este estudo). Além da plasticidade fenotípica e da dificuldade de se observar características diagnósticas, sabe-se que, embora a diferenciação morfológica revele assinaturas do processo de especiação, ela pode não refletir a variação genética (Dobzhansky 1940), assim, a delimitação de espécies de um modo mais acurado, deve considerar a plasticidade fenotípica, as variações genéticas, ecológicas e fisiológicas que acompanham um processo de especiação (De Queiroz 2007).

Apesar dos avanços das técnicas de sequenciamento e do desenvolvimento de várias ferramentas metodológicas para delimitar espécies, esse progresso não vem acompanhado, muitas vezes, de uma compreensão profunda das particularidades dos métodos, dificultando a tomada de decisão quando há uma incongruência de resultado entre eles (Carstens *et al.* 2013). A escolha dos métodos também não é uma tarefa simples, uma vez que um método pode apresentar maior ou menor poder estatístico de acordo com um cenário evolutivo específico, evidenciando ao mesmo tempo a importância de se conhecer o cenário evolutivo do grupo de estudo e a importância de se conduzir testes de simulação prévios para a escolha dos métodos mais acurados.

Como sugerido por Carstens *et al.* (2013), procuramos neste estudo utilizar diferentes métodos de delimitação de espécies e propusemos linhagens que fossem consistentes entre os métodos, assim como sustentadas por outras linhas de evidência como a morfologia, o *rbcL* e as taxas de divergência dos dois marcadores utilizados, indicando como consenso uma hipótese secundária de espécie (SSH).

Torrano-Silva *et al.* (2015) apontou a importância da presença de ao menos três haplótipos únicos representando um grupo molecular para uma delimitação mais acurada das entidades taxonômicas. Entretanto, neste estudo, isso não foi possível em alguns casos, tanto pela falta de sequências no Genbank, quanto de haplótipos no nosso universo amostral. Os resultados divergiram entre si nesses pontos de análise, sendo alguns métodos mais sensíveis do que outros, ao n populacional, como o GMYC.

Em relação aos métodos de delimitação de espécies empregados, o ABGD inicial, ASAP e PTP foram os mais conservadores, agrupando as sequências de maneira similar e mais compatível com a morfologia e as divergências dos espécimes, o que está de acordo com os trabalhos de Kapli *et al.* (2016) e Blair & Bryson (2017), que apontaram o ABGD e o PTP como os métodos mais estáveis para conjuntos de dados que apresentam números de indivíduos desigual por população e por forneceram, com base em estudos empíricos, delimitações mais precisas em sincronia com o conhecimento taxonômico prévio.

O GMYC (limiar único e múltiplo) superestimou o número de espécies, apontando um número total de PSH consideravelmente mais alto que os demais métodos (32 entidades), como já apontado em outros trabalhos (Stevens *et al.* 2012, Luo *et al.* 2018), desta forma, optamos em não favorecer os resultados desse método. O resultado não acurado dessa ferramenta pode estar relacionado com uma série de fatores, como: a precisão da árvore ultramétrica de “input” cuja matriz de alinhamento é reduzida para conter apenas haplótipos únicos antes da inferência filogenética, assim, talvez, as árvores de máxima PP não são amostradas, ou como apontado por Luo *et al.* (2018) e Tang *et al.* (2019), o GMYC ser sensível a razão N/t (tamanho populacional/tempo de divergência) e, em casos em que essa relação é alta, a análise poder levar a uma superestimação de espécies, ou seja, uma espécie ser considerada 2 ou mais entidades distintas como o GMYC demarcou nos casos de *Laurencia natalensis*, *L. caduciramulosa*, *L. microcladia* e *L. dendroidea* do Brasil. Apesar do PTP também ser citado por esses autores como tendo uma sensibilidade a esses mesmos critérios (precisão de árvore de entrada e relação N/t), nesse estudo, esse método se configurou como substancialmente conservador, e portanto, mais robusto.

As análises moleculares geradas para o complexo *Laurencia* com os dois marcadores foram congruentes, evidenciando uma topologia de árvore similar (Figuras 3, 5). O *rbcL*, como esperado, é reconhecidamente mais conservado do que o COI-5P, mostrando valores mais baixos de divergências intra- e interespecíficas (Cassano *et al.* 2020, Serio *et al.* 2020, Popolizio *et al.* 2022). O *rbcL* é um dos genes mais empregados para inferir filogenias e distinguir espécies em Rhodophyta, tendo um número expressivo de sequências depositadas no Genbank, muitas vezes representando o único marcador sequenciado para determinadas espécies, o que demanda forçosamente o seu uso para fins comparativos. Contudo, nossos resultados mostraram que este marcador não foi eficiente

na distinção de complexos de espécies, como os complexos *L. dendroidea* e *P. perforata*, assim como na distinção de espécies proximamente relacionadas como *L. caduciramulosa/L. laurahuertana/L. microcladia*. Além disso, as relações filogenéticas entre os gêneros do complexo não foram resolvidas pelo *rbcL*, tampouco as relações interespecíficas que não foram sustentadas, principalmente, entre espécies de *Laurencia* s.s., o que reforça a utilização de outros marcadores com análises multigênicas e/ou filogenômica na tentativa de esclarecer suas relações evolutivas.

O COI-5P como DNA *Barcode*, por sua vez, é mais acurado para a delimitação e reconhecimento de complexos de espécies, como verificado neste estudo. Considerando a circunscrição atual de *L. dendroidea* e *P. perforata*, os maiores valores de divergência intraespecífica, 0 a 7,2% para *L. dendroidea* e 0 a 4,1% para *P. perforata* foram verificados entre amostras provenientes de áreas geograficamente mais distantes, como já observado em estudos prévios (Geraldino *et al.* 2006, Robba *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007, Cassano 2009), sendo que Robba *et al.* (2006) consideraram espécies com alta divergência intraespecífica procedentes de locais distantes como exemplo de especiação incipiente. A mais alta divergência de *L. dendroidea* ocorreu entre amostras do Pacífico e Atlântico e, de *P. perforata*, entre o Atlântico ocidental e oriental, sendo que para as amostras de *L. dendroidea* dos dois lados do Atlântico a maior divergência ocorreu na mesma faixa de *P. perforata* (4,58%). As amostras de *L. dendroidea* do Pacífico correspondem originalmente à *L. majuscula* tratada atualmente como sinônimo de *L. dendroidea* com base no *rbcL* (Metti *et al.* 2013). Contudo, o COI-5P claramente demonstrou linhagens distintas, assim como os SDM empregados. Considerando a distribuição totalmente segregada dessas linhagens (Pacífico e Atlântico), o histórico taxonômico conflituoso dessas entidades e a acurácia do COI-5P em revelar especiação incipiente (Robba *et al.* 2006), nós julgamos que a coespecificidade de *L. majuscula* com *L. dendroidea* deve ser revista.

Para as amostras do complexo *L. dendroidea* do Atlântico ocidental e oriental, também com alta divergência, consideramos as amostras estudadas como uma única entidade taxonômica (SSH), levando-se em conta os nossos resultados e os estudos prévios detalhados feitos para essa espécie por Cassano (2009), Cassano *et al.* (2012b), Gíl-Rodríguez *et al.* (2012). Neste contexto de complexo de espécies, cujos valores intraespecíficos do COI-5P são mais elevados, como também é o caso de *P. perforata* s.l., identificamos sobreposição dos valores intraespecíficos e interespecíficos

impossibilitando assumir uma distância limite para a identificação clara dos espécimes, evidenciando a necessidade do emprego de outros marcadores e análises moleculares.

Com base nos nossos resultados, três dos oito gêneros do complexo *Laurencia* foram encontrados na costa da Venezuela, *Laurencia*, *Palisada* e *Chondrophyucus*. Nove táxons foram identificados com base na combinação de dados morfológicos e moleculares: cinco do gênero *Laurencia*, três de *Palisada* e um de *Chondrophyucus*.

Dos 20 táxons atualmente referenciados para a Venezuela (Tabela 2), quatro foram confirmados por dados moleculares: *L. caraibica*, *L. dendroidea*, *L. natalensis* e *P. flagellifera*. Três táxons permaneceram indefinidos e foram denominados de *L. aff. microcladia*, *P. aff. perforata 1* e *P. aff. perforata 2*.

Os espécimes previamente identificados como *P. perforata* foram separados em dois morfotipos demandando mais estudos, tanto morfológicos quanto moleculares para esclarecer essas entidades taxonômicas.

Laurencia catarinensis é citada pela primeira vez para a Venezuela, assim como para o Mar do Caribe; a identificação desta espécie foi bem sustentada por dados morfológicos e moleculares, com os espécimes venezuelanos se agrupando com o topótipo da espécie pelo COI-5P.

Um táxon, *Chondrophyucus* sp., não teve correspondência genética com nenhuma sequência depositada no Genbank para o marcador COI-5P. Não obtivemos sucesso na obtenção de sequências de *rbcL* para esse táxon. Contudo, *Chondrophyucus* sp. apresenta uma combinação de características que não são compartilhadas com espécies morfológicamente relacionadas (*C. anabeliae*, *C. dotyi* e *C. kangjaewonii*) como camada de células corticais externas translúcidas e arranjo paralelo dos tetrasporângios. Além disso, a distinção entre *Chondrophyucus* sp. e *C. anabeliae* e *C. dotyi* foi confirmada por dados moleculares. Desta forma, *Chondrophyucus* sp. representa uma potencial espécie nova para a Ciência.

Laurencia obtusa, tradicionalmente citada para a Venezuela (Tabela 2), é distantemente relacionada com a autêntica *L. obtusa* da Europa com base nos nossos resultados moleculares, sendo um nome mal aplicado de *L. dendroidea* para a região, assim, *Laurencia obtusa* deve ser removida da flora da Venezuela.

A ocorrência da autêntica *Laurencia filiformis* não foi confirmada para a Venezuela, uma vez que nenhuma das nossas amostras se agrupou com a sequência do topótipo da Austrália (localidade tipo). Morfologicamente, a circunscrição de *L. filiformis* da Venezuela se enquadra em *L. "scoparia"*, espécie reduzida a um sinônimo da primeira por Rodríguez de Ríos & Saito (1985). A morfologia da autêntica *L. filiformis*, assim como da autêntica *L. dendroidea*, é distinta de *L. "scoparia"*, confirmada pelos materiais-tipo. O morfotipo *L. "scoparia"* não foi encontrado nas nossas coletas nos impossibilitando de gerar sequências para comparação. Novas amostragens são necessárias, especialmente da localidade tipo, La Guaira, a fim de se averiguar se a sinonímia atual deve ser mantida ou se esse táxon constitui uma espécie independente.

Seis espécies do complexo *Laurencia* referenciadas para a Venezuela, *L. decumbens*, *L. foldatsii*, *L. gracilis*, *L. intricata*, *P. corallopsis* e *P. intermedia* não foram encontradas no presente estudo apesar das nossas coletas e materiais adicionais estudados incluem localidades para os quais essas espécies são citadas na literatura (Tabelas 1 e 2). Das seis espécies citadas acima, há sequências disponíveis no Genbank para apenas duas delas, *L. intricata* (incluindo sequência do topótipo, Cuba) e *P. corallopsis* para as quais nenhuma das nossas sequências teve correspondência genética. A possibilidade de ambas serem nomes mal aplicados para a Venezuela não pode ser descartada, porém uma mais ampla amostragem e estudos comparativos são necessários, incluindo obtenção de sequências do topótipo de *P. corallopsis* (Cuba) para essa confirmação.

Laurencia decumbens (como *L. pygmaea*) e *L. gracilis* (como *L. filiformis* J.D. Hooker & Harvey, *nom. illeg.*) necessitam de mais estudos, incluindo acesso às coleções de herbário para melhor entendimento e caracterização desses táxons, uma vez que há poucas descrições dessas espécies na literatura venezuelana. *Laurencia foldatsii*, que tem como localidade tipo a Venezuela (Taguao) e é endêmica do país, também necessita de maior investigação. A espécie é considerada rara, tendo sua área de ocorrência restrita a poucas localidades (Tabela 2) e, apesar de amostras adicionais acrescentadas ao nosso estudo terem incluído sua área de ocorrência, inclusive sua localidade tipo (Taguao e Naiguatá), a espécie não foi encontrada.

Para *Palisada intermedia* nosso estudo verificou que não há uniformidade na determinação desse táxon, com espécimes com morfologias distintas atribuídos a ele (Rodríguez de Ríos 1979, Nam 2011). *Palisada intermedia* pode corresponder a um nome

mal aplicado para a Venezuela, confundida com *P. perforata*, como atualmente circunscrita.

Yuzurua poiteaui var. *poiteaui* e *Y. poiteaui* var. *gemmifera* não tiveram suas áreas de ocorrência amostradas neste estudo e não foram encontradas em outras localidades, não sendo possível confirmá-las por dados moleculares para a Venezuela. Vale destacar que *Y. poiteaui* var. *gemmifera* (como *Laurencia gemmifera*), citada por Rodríguez de Ríos (1965) para a Bahía de Mochima, Sucre, foi assumida como uma identificação equivocada pela própria autora, que a atribuiu, mais tarde, à *L. obtusa* (Rodríguez de Ríos 1979). A citação posterior desta variedade feita por Hammer & Gassner (1967) não pôde ser confirmada. Portanto, consideramos, até o momento, a citação de *Y. poiteaui* var. *gemmifera* para a Venezuela como duvidosa.

Assim como *Yuzurua*, o gênero *Osmundea* não teve sua área de ocorrência amostrada neste estudo e as duas espécies reportadas para a Venezuela, *O. pinnatifida* e *O. oederi* (como *L. bolivarii* N. Rodríguez Ríos 1981) não foram encontradas em outras localidades. Contudo, de acordo com Rodríguez de Ríos (1979), *O. pinnatifida* pode corresponder a um nome mal aplicado de *O. oederi* para a Venezuela. *Laurencia bolivarii* foi transferida para o gênero *Osmundea* por García (2006), que propôs a nova combinação *Osmundea bolivarii* (N. Rodríguez Ríos) M. García-Ortiz. No entanto, a nova combinação foi invalidada pela falta de referência ao basônimo (Serio *et al.* 2008). Ainda de acordo com Serio *et al.* (2008), *L. bolivarii* parece corresponder a *O. oederi* por compartilharem uma série de características, como hábito, padrão de ramificação, presença de ligações secundárias entre as células corticais, ausência de espessamentos lenticulares, ramos espermatangiais não ramificados e geralmente terminando em um aglomerado de células estéreis, inseridos em depressões em forma de taça, localizados na bifurcação dos ramos e cistocarpos ovóides com ostíolo não protuberante. Levando em conta esse conjunto de características comuns, Serio *et al.* (2008) reduziram *L. bolivarii* a um sinônimo heterotípico de *O. oederi*. Devido à dificuldade de separação das espécies com base em caracteres morfológicos, julgamos necessário ampliar a amostragem no litoral da Venezuela visando confirmar essa sinonímia por meio de dados moleculares, com sequenciamento de espécimes coletados a partir da sua localidade tipo, Aragua, Venezuela (Rodríguez de Ríos 1981). Vale destacar que *Osmundea oederi* tem como localidade tipo a Noruega (Serio *et al.* 2008), com topótipo disponível no Genbank e incluído nas nossas análises de COI-5P, e possui distribuição quase que restrita ao

Atlântico norte europeu e Atlântico oriental (Ilhas Canárias) (Guiry & Guiry 2022). As únicas citações para o Atlântico ocidental são para a Venezuela e Brasil (Villaça *et al.* 2010), cuja ocorrência também não foi confirmada por dados moleculares. Isso reforça a necessidade de comparação de sequências de DNA entre os espécimes de *O. oederi* da Venezuela e da Noruega para confirmar por dados moleculares a coespecificidade entre *O. oederi* e “*L. bolivarii*” proposta por Serio *et al.* (2008).

Diante do exposto, fica evidente que o entendimento do complexo *Laurencia* na Venezuela ainda demanda estudos mais aprofundados. Contudo, dentre os 11 táxons não confirmados para a Venezuela neste estudo, muitos representam ou são possíveis nomes mal aplicados ou citações duvidosas para o país. Por outro lado, a diversidade do complexo tem se revelado em novas ocorrências, como *L. catarinensis* (este estudo), *L. digitata* e *C. anabeliae* (Cassano *et al.* 2020), potencial espécie nova, e diferentes morfotipos que podem representar táxons distintos ainda não definidos.

Assim, nossos resultados denotam a importância de se aumentar a amostragem, tanto no que tange ao número de *loci* quanto em regiões de coleta, especialmente dos topótipos, ainda, em alguns casos, ausentes no Genbank. Também, reforçamos a importância do emprego de múltiplas linhas de evidência como, por exemplo, morfologia, estudos multigênicos, filogenômicos, biogeográficos, análise de tempo de especiação, estratégias reprodutivas e verificação de fluxo gênico para uma delimitação precisa, uma vez que o consenso dos métodos apenas aponta o quanto diferentes abordagens interpretam o mesmo conjunto de dados, não sendo suficiente para determinar precisamente o número de espécies, principalmente quando se emprega apenas um marcador.

7 CONCLUSÕES

Pontuamos os seguintes progressos taxonômicos, filogenéticos e moleculares para os representantes do complexo *Laurencia* na costa venezuelana:

O estudo morfológico e molecular de espécies do complexo *Laurencia* permitiu confirmar nove táxons para o litoral da Venezuela: *Chondrophyucus* sp., *Laurencia caraibica*, *L. catarinensis*, *L. dendroidea*, *L. natalensis*, *L. aff. microcladia*, *P. flagellifera*, *P. aff. perforata* 1 e *P. aff. perforata* 2.

Chondrophycus sp. representa uma potencial espécie nova para a Ciência, requerendo mais estudos moleculares com obtenção de sequências de *rbcL* para sua definição.

Laurencia caraibica (como *L. nana*) teve sua ocorrência confirmada pela primeira vez para a flora da Venezuela com base em dados moleculares, seguindo-se o conceito molecular atual da espécie.

A distribuição de *Laurencia catarinensis* foi expandida no Oceano Atlântico ocidental, com sua primeira citação para a Venezuela e para o Mar do Caribe, confirmada pela comparação com sequências da localidade tipo, Santa Catarina, Brasil.

As análises moleculares com o COI-5P e os resultados dos métodos de delimitação de espécies indicaram que *L. dendroidea* forma um complexo de espécies, cujas amostras do Oceano Pacífico, originalmente descritas para a Austrália como *L. majuscula*, representam uma ou mais linhagens independentes. Neste contexto, a coespecificidade de *L. majuscula* e *L. dendroidea* deve ser reavaliada.

Nossas análises morfológicas mostraram que *L. "scoparia"*, sinonimizada com *L. dendroidea*, pode corresponder a uma espécie independente. A definição do *status* taxonômico de *L. "scoparia"* depende da obtenção de sequências de DNA, especialmente a partir da sua localidade tipo, La Guaira, Venezuela.

Os dados moleculares confirmaram que *Laurencia obtusa* é um nome mal aplicado de *L. dendroidea* para a Venezuela e deve ser removida da flora ficológica venezuelana.

Laurencia natalensis foi citada para a Venezuela pontualmente apenas para Cabo San Roman, Península de Paraguaná, Estado Falcón. Nossos resultados expandiram sua distribuição na costa venezuelana para outras localidades nos Estados de Falcón e Vargas.

Laurencia aff. *microcladia* se enquadrou morfológicamente em *L. microcladia* e divergiu em baixos valores das sequências de *rbcL* e COI-5P do Caribe, incluindo do seu topótipo das Ilhas Virgens (EUA). Apesar disso, optamos em manter esse táxon como aff. *microcladia* devido à indefinição do todo o clado formado por *L. microcladia* / *L. aff. microcladia* / *L. "venusta"* / *L. laurahuertana* / *L. caduciramulosa*, cuja divergência correspondeu à faixa intraespecífica para os dois marcadores. Além disso, pelo

posicionamento filogenético de *L. aff. microcladia*, a determinação das nossas amostras como *L. microcladia* tornaria a espécie parafilética.

Palisada flagellifera mostrou uma divergência alta entre as sequências do Atlântico ocidental e oriental. Como não há sequências do topótipo (Indonésia) para comparação, referimos *P. flagellifera* para a Venezuela seguindo o conceito molecular atual da espécie.

Palisada perforata como circunscrita atualmente, foi subdividida em três linhagens distintas pelo COI-5P e pelos métodos de delimitação de espécies: uma incluiu a autêntica *P. perforata* da localidade tipo, Ilhas Canárias, Espanha e as outras duas, espécimes da Venezuela/Bermudas, denominados aqui como *P. aff. perforata 1* e *P. aff. perforata 2*. O primeiro táxon é semelhante à *P. intermedia sensu* Rodríguez de Ríos (1979), enquanto o segundo à *P. "papillosa"*. Maiores estudos são necessários para a definição desses táxons, incluindo a revisão da coespecificidade de *P. papillosa* e *P. perforata*, o que depende da obtenção de sequências do topótipo de *P. papillosa* (Mar Vermelho).

Onze táxons referenciados para a Venezuela não foram confirmados neste estudo: *Laurencia decumbens*, *L. filiformis*, *L. foldatsii*, *L. gracilis*, *L. intricata*, *P. corallopsis*, *P. intermedia*, *O. oederi*, *O. pinnatifida*, *Y. poiteaui* var. *poiteaui* e *Y. poiteaui* var. *gemmifera*, ou por não terem sido amostrados e permaneceram como citação duvidosa, como *Y. poiteaui* var. *gemmifera*, ou por representarem possíveis nomes mal aplicados para o país, como *L. filiformis*, *P. intermedia* e *O. pinnatifida*.

Com esse trabalho, acresceremos ao banco de dados um número significativo de sequências de espécimes da Venezuela, passando de 10 sequências de *rbcL* disponíveis atualmente para 39, e de 7 sequências de COI-5P para 72.

Os resultados moleculares com o marcador do tipo *Barcode* COI-5P mostraram que tanto *Laurencia dendroidea* quanto *Palisada perforata* formam complexos de espécies, com duas e três linhagens distintas, respectivamente, que não foram evidenciadas pelo *rbcL*. Como um marcador mais conservado, o *rbcL* não se configurou como eficiente na evidenciação de complexos e na separação de espécies proximamente relacionadas, tampouco apresentou boa resolução para as relações filogenéticas entre a maioria dos gêneros e, especialmente, entre muitas espécies de *Laurencia s.s.*, evidenciando que análises multigênicas ou filogenômicas são necessárias para esclarecer as relações evolutivas do complexo *Laurencia*.

Os métodos de delimitação de espécies auxiliaram nas decisões taxonômicas, porém levando-se em conta também outras linhas de evidência como características morfológicas e divergências genéticas dos dois marcadores.

De forma geral, os métodos de delimitação apresentaram resultados similares, as exceções envolvem os dois complexos de espécies (*Laurencia dendroidea* e *Palisada perforata*), com grande diversidade intraespecífica, gerando incongruência entre os métodos, enfatizando tanto a proximidade das linhagens envolvidas, como a necessidade de uma investigação molecular mais profunda.

Neste primeiro estudo sistemático molecular do complexo *Laurencia* na Venezuela avançamos no entendimento de alguns táxons ocorrentes no país, porém os dados evidenciam que uma maior amostragem e estudos adicionais são necessários para se desvendar a real diversidade desse complexo na costa venezuelana.

REFERÊNCIAS

- Abbott, I.A. 1984. *Limu: an ethnobotanical study of some Hawaiian seaweeds*. 3a. ed. Pacific Tropical. Botanical Garden, Kauai, Hawaii, 35pp.
- Abe, T., Kurihara, A., Kawaguchi, S., Terada, R. & Masuda, M. 2006. Preliminary report on the molecular phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae). *Coastal Marine Sciences* 30: 209–213.
- Acleto, C. & Zuñiga, R. 1998. *Introducción a las Algas*. Editorial UNMSM. Lima-Perú.
- Agardh, C.A. 1822. *Species algarum*. 1, part 2, Lund: viii + 169-398.
- Agardh, J.G. 1852. Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen secundum: *algas florideas complectens*. Part 3, fasc. 1. pp. 701-786. Lundae [Lund]: C.W.K. Gleerup.
- Almeida, P. 1976. Biología y Ecología de los arrecifes coralinos de Tucacas, Cayo Sombrero, Edo. Falcón. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 32: 43-70.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389-3402.
- Ardito, S. 1994. *Algunos aspectos en la estructura de una comunidad intermareal de macroalgas marinas en una región del litoral central de Venezuela*. Trabajo Especial de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Ardito, S. 2001. *Estudio del potencial reproductivo de Gelidium serrulatum J. Agardh (Rhodophyta, Gelidiales) y de la calidad del agar extraído de las diferentes fases del ciclo de vida*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 147 pp.
- Ardito, S. 2007. *Variación temporal por fase reproductiva en las propiedades del agar de Gelidium serrulatum J. Agardh (Rhodophyta, Gelidiales) y aplicabilidad del mismo como cultivo bacteriológico*. Trabajo de Ascenso (Agregado). Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. 78 pp
- Ardito, S. 2013. Estado actual del conocimiento de la ficoflora marina del estado Carabobo, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelana* 36: 215-238.
- Ardito, S., Gómez, S. & Vera, B. 1995. Estudio sistemático de las macroalgas marinas bentónicas en la localidad de Taguao, Distrito Federal, Litoral Central Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 18: 53-66.

- Ardito, S. & Vera, B. 1997. Catálogo de las macroalgas marinas del Herbario Nacional de Venezuela (VEN). *Acta Botánica Venezuelica* 20: 25-108.
- Ardito, S. & García, M. 2009. Estudio ficológico de las localidades de Puerto Francés y San Francisquito, estado Miranda, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 32: 113-143.
- Ardito, S., Núñez-Resendiz, M.L., Dreckmann, K.M. & Senties, A. 2017. *Gracilaria falconii* sp. nov. (Gracilariales, Rhodophyta): a new species with flat axes from Venezuela. *Phytotaxa* 292: 271-278.
- Ardito, S., Vera, B. & Polanco, Y. 2021. Macroalgas Marinas del estado Falcón. *Croizatia* (in press).
- Barrios, J., Sant, S., Méndez, E. & Ruíz, L. 2003. Macroalgas asociadas a arrecifes coralinos en el Parque Nacional Mochima, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente* 15: 28-32.
- Barrios-Montilla, J., Ruiz-Allaiz & Amaro, M. 2021. Interacciones alga-coral en arrecifes coralinos invadidos por *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) en Isla Cubagua, estado Nueva Esparta. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente, Venezuela* 60:17-31.
- Betancourt, R. & Barrios, J. 2021. Macroalgas asociadas a *Rhizophora mangle* en la ensenada de Carenero, estado Sucre, Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica* 41: 17-31.
- Bibi, R., Cassano, V., Da Silva Medeiros, R., Rashid, S. & Rasheed, M. 2019. Morphological and molecular systematic investigation of *Laurencia karachiana* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Karachi, Pakistan. *Phytotaxa* 404: 23-40. DOI: 10.11646/phytotaxa.404.1.3
- Blair, C., & Bryson, R. W. 2017. Cryptic diversity and discordance in single-locus species delimitation methods within horned lizards (Phrynosomatidae: Phrynosoma). *Molecular Ecology Resources* 17: 1168–1182. doi:10.1111/1755-0998.12658
- Burger, G., Saint-Louis, D., Gray, M. W. & Lang, B.F. 1999. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the red algae *Porphyra purpurea*. Cyanobacterial introns and shared ancestry of red and green algae. *Plant Cell* 11:1675-94.
- Canelón, D., Ciancia, M., Suárez, A., Compagnone, R. & Matulewicz, M. 2014. Structure of highly substituted agarans from the red seaweeds *Laurencia obtusa* and *Laurencia filiformis*. *Carbohydrate Polymers* 101: 705-713.
- Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M. & Satler, J. D. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22: 4369–4383. doi:10.1111/mec.12413
- Cassano, V. 2009. *Taxonomia e filogenia do complexo Laurencia (Ceramiales, Rhodophyta), com ênfase no estado do Rio de Janeiro, Brasil*. Tese de doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria do Estado do meio ambiente, São Paulo, 328p.

- Cassano, V., Fujii, M.T., Díaz-Larrea, J., Oliveira, M.C., Gil-Rodríguez, M.C. & Senties, A. 2009. Evidence for the conspecificity of *Palisada papillosa* with *P. perforata* (Ceramiales, Rhodophyta) from the western and eastern Atlantic Ocean on the basis of morphological and molecular analyses. *Phycologia* 48: 86-100.
- Cassano, V., Metti, Y., Millar, A. J. K., Gil-Rodríguez, M. C., Senties, A., Díaz-Larrea, J., Oliveira, M. C. & Fujii M. T. 2012b. Redefining the taxonomic status of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil and the Canary Islands. *European Journal of Phycology* 47: 67-81. <https://doi.org/10.1080/09670262.2011.647334>
- Cassano, V., Oliveira, M.C., Gil-Rodríguez M.C., Senties, A., Díaz-Larrea, J. & Fujii, M.T. 2012a. Molecular support for the establishment of the new genus *Laurenciella* within the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 55: 349–357.
- Cassano, V., Oliveira, M.C., Gil-Rodríguez, M.C., Senties, A., Díaz-Larrea, J. & Fujii, M.T. 2012c. Morphological and molecular studies on the Brazilian native red seaweed *Laurencia oliveirana* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 22: 838-849.
- Cassano, V., Santos, G.N., Pestana, E.S., Nunes, J.M.C., Oliveira, M.C. & Fujii, M.T. 2019. *Laurencia longiramea* sp. nov. for Brazil and an emendation of the generic delineation of *Corynecladia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* <https://doi.org/10.1080/00318884.2018.1523519>
- Cassano, V., Soares, P.L., Vera-Vegas, B.E., Ardito, S., Gomez, S., Senties, A. & Fujii, M.T. 2020. *Chondrophyucus anabeliae* and *Laurencia digitata* (Ceramiales, Rhodophyta) are recorded for the first time for Venezuela expanding their geographic distributions beyond the type localities. *Botanical Sciences* 98: 624-643. doi: 10.17129/botsoci.2610
- Chapman, V.J. 1970. Seaweeds and their uses. 2a. ed. Methen, London. 304 pp.
- Clarkston B.E. & Saunders G.W. 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. *Botany* 88: 119–131.
- Collado-Vides, L., Cassano, V., Díaz-Larrea, J., Duran, A., Medeiros, A.S., Senties, A. & Fujii, M.T. 2014. Spread of the introduced species *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) to the northwest Atlantic: A morphological and molecular analysis. *Phytotaxa* 183: 93-107.
- Collado-Vides, L., Duran, A., Armanis, E., Cassano, V., Burkepile, D., Shantz, A.A., Palma, L., Díaz-Larrea, J., Senties, A. & Fujii, M.T. 2017. Seasonal recruitment and survival strategies of *Palisada cervicornis* comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) in coral reefs. *Journal of Phycology* 53: 1087–1096.

- Collado-Vides, L., Cassano, V., Santos, G.N., Senties, A. & Fujii, M.T. 2018. Molecular and morphological characterization of *Laurencia intricata* and *Laurenciella mayaimii* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) in South Florida, USA. *Phycologia* 57: 287-297.
- Cordero, M. 2016. Caracterización ficológica del litoral rocoso y manglares de Yapascua, Parque Nacional San Esteban, estado Carabobo. *Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela*, 145 pp.
- Costa, E.S, Plastino, E.M, Petti, R., Oliveira, E.C. & Oliveira, M.C. 2012. The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil—a DNA barcoding approach. *Journal of Applied Phycology* 19: 3-13.
- Costilla, M. 2019. *Estructura y distribución espacial de la comunidad de macroalgas bénticas asociadas a la zona mesolitoral de la plataforma rocosa de Playa Caribe, Chuspa, estado Miranda*. Trabajo Especial de Grado, Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, 113 pp.
- Davyt, D., Fernandez, R., Suescun, L., Momburu, A. W., Saldana, J., Domínguez, L., Coll, J., Fujii, M. T. & Manta, E. 2001. New sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia scoparia*. Isolation, structure determination, and anthelmintic activity. *Journal of Natural Products* 64: 1552-1555.
- Dayton, P.K. & Tegner, M.J. 1984. The importance of scale in community ecology: a kelp forest example with terrestrial analogs. In Price, P., Slobodchikoff, C. & Gaud, W. [Eds.] *A New Ecology: Novel Approacher to Interactive Systems*. John Wiley & Sons, New York, pp. 457–81.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56: 879-886. doi: 10.1080/10635150701701083
- Delascio, F. 1978. *Aspectos botánicos de la Bahía de Patanemo*. Instituto Botánico, Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables (Ed.). Caracas. 50 pp.
- Díaz-Larrea, J., Senties, A.G., Fujii, M.T., Pedroche, F.F. & Oliveira, M.C. 2007. Molecular evidence for *Chondrophycus poiteaui* var. *gemmiferus* comb. et stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean Sea: implications for the taxonomy of the *Laurencia* complex. *Botanica Marina* 50: 250-256.
- Díaz-Piferrer, M. 1970. Adiciones a la flora marina de Venezuela. *Caribbean Journal of Sciences* 10: 159-198.
- Díaz-Piferrer, M. 1979. *Contributions and potentialities of Caribbean marine algae in pharmacology*. En: Hoppe, H.A., T. Levring y Y. Tanaka (eds.) *Marine algae in pharmaceutical science*. Walter de Grueter, New York. p. 149-164.

- Díaz-Tapia, P., Maggs, C. A., West, J. A., & Verbruggen, H. 2017. Analysis of chloroplast genomes and a supermatrix inform reclassification of the Rhodomelaceae (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 53: 920–937. doi:10.1111/jpy.12553
- Dobzhansky, T. 1940. Speciation as a stage in evolutionary divergence. *The American Naturalist* 74: 312-321. doi: 10.1086/280899
- Draisma, S.G.A. Van Reine, W.F.P. 2001. A reassessment of phylogenetic relationships within the phaeophyceae based on rubisco large subunit and ribosomal DNA sequences. *Journal of Phycology*. 37:586–603.
- Erickson, K.L. 1983. Constituents of *Laurencia*. In: Scheur P.J. (ed.) *Marine natural products*. New York Academic Press. 5:131-257.
- Falkenberg, P. 1901. Die Rhodomelaceen des Golfes von Neapel und der Angrenzenden Meeres-Abschnitte. Fauna Flora Golfes Neapel 26. Berlin. 754p.
- Faulkener, D.J. 1984. Marine natural products: metabolites of marine algae and herbivorous marine molluscs. *Nat.Prod. Rep.* 251-280.
- Faulkener, D.J. 1986. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 3: 6-33.
- Faulkener, D.J. 1987. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 4: 539-576.
- Faulkener, D.J. 1990. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 7: 269-309
- Faulkener P. 1901. Die Rhodomelaceen des Golfes von Neapel und der Angrenzenden Meeres-Abschnitte. Fauna Flora Golfes Neapel 26. Berlin. 754 pp.
- Fenical, W. & Norris, J. 1975. Chemotaxonomy in marine algae. Chemical separation of some *Laurencia* species (Rhodophyta) from the Gulf of California. *Journal of Phycology* 11: 104-108.
- Ficoflora Venezuela, CDCH, 2016. Creación del Catálogo Taxonómico Nacional de las Macroalgas bénticas marinas de Venezuela. Caracas, Venezuela. 38 pp.
- Francis, C., Bolton, J.J., Mattio, L., Mandiwana-Neudani, T.G. & Anderson, R.J. 2017. Molecular systematics reveals increased diversity within the South African *Laurencia* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 53: 804-819.
- Fredericq, S., Hommersand, M. H. & Freshwater, D. W. 1996. The molecular systematics of some agar- and carrageenan-containing marine red algae based on rbcL sequence analysis. *Hydrobiologia* 326/327: 125-135.
- Fredericq, S., Anderson, R.J. & Lopez-Bautista, J. 2003. Systematic circumscription of some Phyllophoraceae (Gigartinales, Rhodophyta) from the Cape region, South Africa, based on molecular evidence. *Proceedings XVIIth International Seaweed Symposium*: 263-274.

- Freshwater, D.W., Fredericq, S., Butler, B.S., Hommersand, M.H. & Chase, M.W. 1994. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7281-7285
- Freshwater, D.W. & Rueness, J. 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia* 33: 187-194.
- Freshwater, D.W., Fredericq, S. & Hommersand, M.H. 1995. A molecular phylogeny of the Gelidiales (Rhodophyta) based on analysis of plastid *rbcL* nucleotides sequences. *Journal of Phycology* 31: 616-632.
- Fujii, M.T. 1990. *Gênero Laurencia (Rhodomelaceae, Rhodophyta) no Estado de São Paulo: aspectos biológicos e taxonômicos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 145p.
- Fujii, M.T. & M. Cordeiro-Marino. 1996. *Laurencia translucida* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. *Phycologia* 35: 542-549.
- Fujii, M.T., Guimarães, S.M.P.B., Gurgel, C.F.D. & Fredericq, S. 2006. Characterization and phylogenetic affinities of the red alga *Chondrophycus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil on the basis of morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45: 432-441.
- Fujii, M.T., Cassano, V., Stein, E.M. & Carvalho, L.R. 2011. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21: 268-282
- Fujii, M. T., A. Senties, C. A. Jover, J. Díaz-Larrea and A. Areces. 2016. Morphological and molecular evidence for *Osmundea coelenterata* comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the tropical Atlantic Ocean. *Hidrobiológica* 26: 203-211.
- Fujisawa, T. & Barraclough, T. G. 2013. Delimiting Species Using Singlelocus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) approach: A revised method and evaluation on simulated datasets. *Systematic Biology* 62: 707-724.
- Ganesan, E.K. 1968. Studies on the marine algal flora of Venezuela I. The occurrence of the brown alga *Levringia brasiliensis* (Montagne) Joly in the Caribbean. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 7: 129-136.
- Ganesan, E.K. 1970. Studies on the marine algal flora of Venezuela II. Two interesting new additions. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 9: 13-108.
- Ganesan, E.K., 1976. Studies on the marine algal flora of Venezuela VII. Some new additions. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente, Venezuela* 15: 73-82.

- Ganesan, E.K. 1983. Evaluación de la flora macrobentónica (macroalgas y fanerógamas marinas) de la cuenca Tuy-Cariaco, Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 22: 145 - 176.
- Ganesan, E. 1989. *A catalog of benthic marine algae and seagrasses of Venezuela*. Fondo Editorial CONICIT, Caracas, pp. [1]-237.
- Garbary D. & Harper J. 1998. A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19: 185–200.
- García, M. 2006. *Osmundea bolivarii* (Rodríguez) M. García-Ortiz comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Acta Botanica Venezuelica* 29: 17-25.
- García, M. & Gómez, S. 2004. Macroalgas bénticas marinas de la localidad Carmen de Uria, estado Vargas, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 27: 43-56.
- García, M., Gómez, S., Gil, N. & Espinoza, Y. 2013. Macroalgas marinas del sector Puerto Cruz en el estado Vargas, Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 52: 23-31.
- García-Soto, G. & Lopez Bautista, J. M. 2019. *Laurencia natalensis* Kylin (Ceramiales): a new record for the Atlantic Ocean. *Caribbean Journal of Science* 49: 201-208.
- Gargano, A.M. 2014. 3^a.ed. *El espacio Geográfico de Venezuela*. Ciencias Sociales. 3er. año. Colección Bicentenario. Fundación Editorial El perro y la rana. Caracas, Venezuela.
- Garrido, A. & García, Y. 2017. Inventario de las macroalgas de arribazón en Playa Parguito, Isla de Margarita, Venezuela. *Boletín Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 56: 81-88.
- Gil, N. 2001. *Estudio Florístico de las macroalgas marinas que crecen en la localidad de Playa Mero. (Cayo Ánimas, Parque Nacional Morrocoy, Edo. Falcón, Venezuela)*. Trabajo Especial de Grado. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 121 pp.
- Gil-Rodríguez, M.C., Senties, A., Díaz-Larrea, J., Cassano, V. & Fujii, M.T. 2009. *Laurencia marilzae* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain, based on morphological and molecular evidence. *Journal of Phycology* 45: 264-271.
- Gil-Rodríguez, M.C., Cassano, V., Aylagas, E., Senties, A., Díaz-Larrea, J., Oliveira, M.C. & Fujii, M.T. 2010. *Palisada flagellifera* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain: a new record for the eastern Atlantic Ocean based on morphological and molecular evidence. *Botanica Marina* 53: 31-40.

- Gómez, S. 1982. *Estudio sistemático de las algas macrobénticas marinas de las islas coralinas: Cayo Borracho y Cayo Sal, Parque Nacional Morrocoy estado Falcón*. Trabajo de Ascenso. Categoría Profesor Asistente. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 119.
- Gómez, S. 1998. *Rhodophyta (Algas marinas rojas) del Parque Nacional Archipiélago Los Roques*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 299 pp.
- Gómez, S., García, M., Carballo Barrera, Y. & Gil, N. 2017. *Macroalgas bénticas del Parque Nacional Archipiélago Los Roques, Venezuela*. Guía ilustrada. Ediciencias-UCV. Caracas. 213 pp.
- González, 1977. Estudio fico-ecológico de una región del Litoral Central (Punta de Tarma) - Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 12: 207:240.
- Guilarte, A., Rodríguez, J. & Velázquez-Boadas, A. 2012. Estudio de la ficoflora macrobentónica de la bahía de Boca del Río, Isla de Margarita, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 35: 203-218.
- Grunow, A. 1868 '1867'. Algae. In: *Reise der österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859 unter den Befehlen des Commodore B. von Wüllerstorff-Urbair. Botanischer Theil. Erster Band. Sporenpflanzen*. (Fenzl, E. et al. Eds), pp. 1-104. Wien [Vienna]: Aus der Kaiserlich Königlichen Hof- und Staatsdruckeri in Commission bei Karl Gerold's Sohn.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2022. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; acessado em 21 de março de 2022.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp.* Ser. 41: 95-98.
- Hammer, L. & Gessner, F. 1967. La taxonomía de la vegetación marina en la costa oriental de Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente*, 6:1 86-265.
- Harvey, W.H. 1849. *Nereis australis*, or algae of the Southern Ocean: being figures and descriptions of marine plants, collected on the shores of the Cape of Good Hope, the extra-tropical Australian colonies, Tasmania, New Zealand, and the Antarctic regions; deposited in the Herbarium of the Dublin University. [Part 2]. pp. 65-124 [ends abruptly], pls XXVI-L. London: Reeve Brothers.
- Harvey, W.H. 1863. *Phycologia Australica*, vol. 5. L. Reeve & Co., London, UK, (Synoptic catalogue), 73 p pls 241-300.

- Hernández, O.E., Senties, A., Dreckmann, K.M., Cassano, V. & Fujii, M.T. 2017. Species diversity and biogeographical patterns of *Laurencia sensu stricto* (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean. Diversidad de especies y patrones biogeográficos de *Laurencia sensu stricto* (Rhodophyta) en el océano Atlántico. *Hidrobiologica* 27: 301-314.
- Hommersand, M. H. 1963. The morphology and classification of some Ceramiaceae and Rhodomelaceae. *University of California Publications in Botany* 35:165–366.
- Hommersand, M.H, Frederico, S. & Freshwater, D.W. 1994. Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinaceae (Ceramiales, Rhodophyta) based on sequence analysis of rbcL. *Botanica Marina* 37: 193-203.
- Howe, M.A. 1920. Algae. In: N.L. Britton and C.F. Millspaugh (Eds.). Bahama flora. New York. pp. 553-631.
- Huapaya, K. 2017. *Estudio florístico de las macroalgas bénticas marinas de la localidad Las Salinas, estado Vargas*. Trabajo Especial de Grado, Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 220 pp.
- Hughey, R. J. & Miller, A. K. 2021. Genetic investigation of three type specimens of *Osmundea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Gulf of California, Mexico and California, USA. *Phytotaxa* 489: 065-078. doi: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.489.1.5>
- Kapli, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A. & Flouri, T. 2016. Multi-rate Poisson Tree Processes for single-locus species delimitation under Maximum Likelihood and Markov Chain Monte Carlo. *bioRxiv* preprint doi: <https://doi.org/10.1101/063875>
- Kurihara, A., Abe, T., Tani, M. & Sherwood, A.R. 2010. Molecular phylogeny and evolution of red algal parasites: a case study of *Benzaitenia*, *Janczewskia*, and *Ululania* (Ceramiales). *Journal of Phycology*. 46: 580-90.
- Kützing, F.T. 1863. *Tabulae phycologicae*; oder, Abbildungen der Tange. Vol. XIII pp. [i-iii], 1-31, 100 pls. Nordhausen: Gedruckt auf kosten des Verfassers (in commission bei W. Köhne)
- Kützing, F.T. 1865. *Tabulae phycologicae*; oder, Abbildungen der Tange. Vol. XV pp. [i-iii], 1-36, 100 pls. Nordhausen: Gedruckt auf kosten des Verfassers (in commission bei W. Köhne).
- Kylin, H. 1923. Studien über die Entwicklungsgeschichte der Florideen. Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar 63: 1-139.
- Kylin, H. 1956. Die Gattungen der Rhodophyceen. Glycerups, Lund, Glycerups, 673p.

- Lam V. K. Y., Merckx V. S. F. T. & Graham S. W. 2016. A few-gene plastid phylogenetic framework for mycoheterotrophic monocots. *American Journal of Botany* 103: 692–708.
- Lamouroux, J.V.F. 1813. Essai sur les genres de la famille des Thallassiophytes non articulées. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle (Paris)* 20: 21-47, 115-139, 267-293, pls. 7-13.
- Le Gall, L. & Saunders, G.W. 2010. DNA barcoding is a powerful tool to uncover algal diversity: a case study of the Phylloporaceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the Canadian flora. *Journal of Phycology* 46: 374–389. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2010.00807.x
- Lemus, A. 1979. Las algas marinas del golfo de Paria, Venezuela. I. Chlorophyta y Phaeophyta. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente (Cumaná)* 18: 17-36.
- Lin, S.M., Fredericq, S. & Hommersand, M.H. 2001. Systematics of the Delesseriaceae (Ceramiales, Rhodophyta) based on LSU rDNA and rbcL sequences, including the Phycodryoideae, subfam. nov. *Journal of Phycology* 37: 881-899.
- Littler, D. & Littler M. 2000. *Caribbean Reef Plants*. Offshore Graphics, INC. Washington, D.C., USA.
- Lobo, M. & Rodríguez de Ríos, N. 1985. Catálogo de las algas marinas del Parque Nacional Morrocoy, estado Falcón. *Ernstia* 34: 1-35.
- López, B., Vera, B. & Conde, J. 2009. Macroalgas asociadas a las raíces de *Rhizophora mangle* L. en la Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 28: 11-21.
- Lucas, A.H.S. 1935. The marine algae of Lord Howe Island. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 60: 194-232, pls 5-9.
- Luo, A., Ling, C., Ho, W.Y.S. & Zhu, C.D. 2018. Comparison of Methods for Molecular Species Delimitation Across a Range of Speciation Scenarios. *Systematic Biology* 67: 830-846, 2018.
- Machado, F. L. S., Pacienza-Lima, W., Rossi- Bergmann, B., Gestinari, L. M. S., Fujii, M. T., De-Paula, J. C., Costa, S. S., Lopes, N. P., Kaiser, C. R. & Soares, A. R. 2011. Antileishmanial sesquiterpenes from the Brazilian red alga *Laurencia dendroidea*. *Planta Medica* 77: 733-735.
- Machín-Sánchez, M., Le Gall, L., Neto, A.I., Rousseau, F., Cassano, V., Senties, A., Fujii, M.T., Díaz-Larrea, J., Prud'home van Reine, W. Bonillo, C. & Gil-Rodríguez, M.C. 2014. A combined barcode and morphological approach to the systematics and biogeography of *Laurencia pyramidalis* and *Laurenciella marilzae* (Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 49: 115-127.

- Machín-Sánchez, M., Rousseau, F., Le Gall, L., Cassano, V., Neto, A.I., Senties, A., Fujii, M.T. & Gil-Rodríguez, M.C. 2016. Species diversity of the genus *Osmundea* (Ceramiales, Rhodophyta) in the Macaronesian region. *Journal of Phycology* 52: 664–681.
- Maggs, C.A. & Hommersand, M.H. 1993. Seaweeds of the British Isles. Volume 1. Rhodophyta. Part 3A. Ceramiales. London, 444 p.
- Manghisi, A., Miladi, R., Minicante, S.A., Genovese, G., Le Gall, L., Abdelkafi, S., Saunders, G.W. & Morabito, M. 2019. DNA Barcoding sheds light on novel records in the Tunisian red algal flora. *Cryptogamy, Algologie* 40: 13-34. doi: 10.5252/cryptogamie-algologie2019v40a3.
- Martin-Lescanne, J., Rousseau, F., De Reviere, B., Payri, C., Couloux, A., Cruaud, C. & Le Gall, L. 2010. Phylogenetic analyses of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae, Ceramiales) support recognition of five genera: *Chondrophycus*, *Laurencia*, *Osmundea*, *Palisada* and *Yuzurua* stat. nov. *European Journal of Phycology* 45: 51-61.
- Martins, N.T., Gurgel, C.F., Spokey, M.T., Cassano, V. 2021. *Colpomenia* species from south and south-eastern Australia (Ectocarpales, Phaeophyceae): a DNA barcoding approach. *Australian Systematic Botany* 34: 587-594.
- Maschek, J.A. & Baker, B.J. 2008. The chemistry of algal secondary metabolism. *Algal Chemical Ecology* 1-24. DOI: 10.1007/978-3-540-74181-7_1
- Masuda, M. & Abe, T. 1993. The occurrence of *Laurencia saitoi* Perestenko (Ceramiales, Rhodophyta) in Japan. *Japanese Journal of Phycology* 41: 7-18.
- McIvor, L., Maggs, C.A., Guiry, M.D. & Hommersand, M.H. 2002. Phylogenetic analysis of the geographically disjunct genus *Osmundea* Stackhouse (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Constancea* 83.9 [online publication of the Jepson Herbarium, UC, Berkeley: http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/mcivor_etal/osmundea.html].
- McDermid, K.J. 1988. *Laurencia* from the Hawaiian Islands: key, annotated list and distribution of the species. In: Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific and Caribbean species. (Abbott, I.A. Eds) California Sea Grant College Program, vol.2, pp. 231-247.
- Meti, Y., Millar, A.J.K., Cassano, V. & Fujii, M.T. 2013. Australian *Laurencia majuscula* (Rhodophyta, Rhodomelaceae) and the Brazilian *Laurencia dendroidea* are conspecific. *Phycological Research* 61: 98-104.

- Metti, Y., Millar, A. J. K. & Steinberg, P. 2015. A new molecular phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) and a review of key morphological characters result in a new genus, *Coranophycus*, and a description of *C. novus*. *Journal of Phycology* 51: 929-42.
- Millar, A.J.K. & Prud'homme van Reine, W.F. 2005. Marine benthic macroalgae collected by Vieillard from New Caledonia and described as new species by Kützing. *Phycologia* 44: 536-549.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, pp. 1–8.
- Miloslovich, P., Klein, E., Yereña, E. and Martín, A. 2003. Marine biodiversity in Venezuela: Status and perspectives. *Gayana* 67: 275-301
- Miloslavich, P., J. M. Díaz, E. Klein, J. J. Alvarado, C. D'Á, J. Gobin, E. Escobar-Briones, J. J. Cruz-Motta, E. Weil, J. Cortés, A. C. Bastidas, R. Robertson, F. Zapata, A. Martín, J. Castillo, A. Kazandjian, and M. Ortiz. 2010. Marine Biodiversity in the Caribbean: Regional Estimates and Distribution Patterns. PLoS ONE 5(8). <http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0011916.PDF>
- Milstein, D. & Saunders, G.W. 2012. DNA Barcoding of Canadian Ahnfeltiales (Rhodophyta) reveals a new species – *Ahnfeltia borealis* sp. nov. *Phycologia* 51: 247–259.
- Montagne, C. 1845. Plantes cellulaires. In: *Voyage au Pôle Sud et dans l'Océanie sur les corvettes l'Astrolabe et la Zélée...pendant les années 1837-1838-1839-1840, sous le commandement de M.J. Dumont-d'Urville. Botanique.* (Hombron, J.B. & Jacquinot, H. Eds) Vol. 1, pp. i-xiv, 1-349. Paris: Gide et Cie, Éditeurs.
- Muñoz-Gómez, S. A., Mejía-Franco, F. G., Durnin, K., Colp, M., Grisdale, C. J., Archibald, J. M. & Slamovits, C. H. 2017. The new red algal Subphylum Proteorhodophytina comprises the largest and most divergent plastid genomes known. *Current Biology* 27: 1677-1684.e4
- Nam, K.W. 1999. Morphology of *Chodrophycus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *European Journal of Phycology* 34: 455-468.
- Nam, K.W. 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov. from Korea. *Journal of Applied Phycology* 18: 679-697.
- Nam, K. W. 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Algae* 22: 53–55.

- Nam, K.W., Maggs, C.A. & Garbary, D.J. 1994. Resurrection of the genus *Osmundea* with an emendation of the generic delineation of *Laurencia* Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 33: 384-395.
- Nam, K.W. & Sohn, C.H. 1994. *Laurencia kangjaewonii* sp.nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Korea. *Phycologia* 33:397-403.
- Nam, K.W. & Y. Saito. 1994. A re-examination of *Laurencia hybrida* (Ceramiales, Rhodophyta) from the British Isles: vegetative and reproductive morphology. *Phycologia* 33: 34-41.
- Nam, K.W., Maggs, C.A., McIvor, L. & Stanhope, M.J. 2000. Taxonomy and phylogeny of *Osmundea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Atlantic Europe. *Journal of Phycology* 36: 759-772.
- Ortiz, N. 2007. *Catálogo comentado de las Rhodophytas macrobénticas marinas del Cabo San Román, estado Falcón*. Trabajo de Ascenso. Categoría Profesor Agregado. Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela, 171 pp.
- Perdomo, M., de Lourdes Olivo, M., Bonduki, Y., & Mata, L. J. 1996. *Vulnerability and Adaptation Assessments for Venezuela. Vulnerability and Adaptation to Climate Change*, 347–366. doi:10.1007/978-94-017-3653-4_1
- Popolizio, T. R., Schneider, C. W., Jongbloed, W. M., Saunders, G. W. & Lane, C. E. 2022. Molecular analysis resolves the taxonomy of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae, Ceramiales) in Bermuda and uncovers novel species of *Chondrophycus* and *Laurenciella*. *Cryptogamie, Algologie* 43: 1-30.
<https://doi.org/10.5252/cryptogamie-algologie2022v43a1>.
- Posada, D. & Crandall, K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-8.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21: 1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Puillandre, N., Brouillet, S., & Achaz, G. 2020. ASAP: Assemble Species by Automatic Partitioning. *Molecular Ecology Resources*. doi:10.1111/1755-0998.13281.
- Ragan, M. A. et al. 1994. A molecular phylogeny of the marine red algae (Rhodophyta) based on the nuclear small-subunit rRNA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 7276. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.15.7276>.
- Robba, L., Russell, S.J., Barker, G.L. & Brodie, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93: 1101-1108.

- Rocha-Jorge, R., Cassano, V., Oliveira, M.C., Fujii, M.T. 2010. The occurrence of *Laurencia marilzae* (Ceramiales, Rhodophyta) in Brazil based on morphological and molecular data. *Botanica Marina* 53: 143-152.
- Rocha-Jorge, R., Cassano, V., Barros-Barreto, M.B., Díaz-Larrea, J., Senties, A., Gil-Rodríguez, M.C. & Fujii, M.T. 2013. *Osmundea sanctarum* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the southwestern Atlantic Ocean. *Phytotaxa* 100: 41-56
- Rodríguez, G. 1959. The marine communities of Margarita Island, Venezuela. *Bulletin of Marine Science of the Gulf and Caribbean* 9: 237-280.
- Rodríguez, J., Salazar, M., Guilarte, A. & Velázquez-Boadas, A. 2013. Macroalgas bénticas marinas de Playa Guacuco, Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica* 36: 163-182.
- Rodríguez de Ríos, N. 1965. Lista de algas macroscópicas de la Bahía de Mochima (Venezuela). *Lagena* 8: 41-50.
- Rodríguez de Ríos, N. 1972. Contribución al estudio sistemático de las algas macroscópicas de las costas de Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 7: 219-324.
- Rodríguez de Ríos, N. 1979. *El género Laurencia Lamouroux en Venezuela*. Trabajo de Ascenso. Categoría Profesor Agregado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 430 pp.
- Rodríguez de Ríos, N. 1981. Dos especies nuevas de *Laurencia* (Rhodophyta, Ceramiales). *Ernstia* 2: 1-11.
- Rodríguez de Ríos, N. 1985. Catálogo de macroalgas colectadas en el litoral del Parque Henri Pittier. *Ernstia* 29:13-36.
- Rodríguez de Ríos, N. & Saito, Y. 1982. Observaciones sobre el género *Laurencia* en Venezuela. I. *Laurencia intermedia* Yamada y *L. corallopsis* (Montagne) Howe. *Ernstia* 11: 1-16.
- Rodríguez de Ríos, N. & Lobo, M. 1984. Dos adiciones para la flora de algas marinas de Venezuela. *Ernstia* 25: 1-7
- Rodríguez de Ríos, N. & Saito, Y. 1985. *Laurencia scoparia* J. Agardh, nuevo sinónimo de *Laurencia filiformis* (C. Agardh) Montagne (Rhodophyta, Ceramiales). *Ernstia* 2:19-28.
- Rousseau F., Gey D., Kurihara A., Maggs C.A., Martin-Lescanne J., Payri C., de Reviere B., Sherwood, A. & Le Gall I. 2017. Molecular phylogenies support taxonomic revision of three species of *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), with the description of a new genus. *European Journal of Taxonomy* 269: 1-19.

- Saito, Y. 1967. Studies on Japanese species of *Laurencia* with special reference to their comparative morphology. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* 15: 1-81.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., 3 vol. Cold Spring Harbour Laboratories press, New York.
- Santos, A. O, Veiga-Santos, P., Ueda-Nakamura, T., Dias-Filho, B. P., Sudatti, D. B, Bianco, E. M., Pereira, R. C. & Nakamura, C. V. 2010. Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. *Marine Drugs* 8: 2733-2743.
- Saunders, G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, doi:10.1098/rstb.2005.1719.
- Saunders, G.W. 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea-Neodilsea* complex and *Weeksia*. *Botany* 86: 773–789.
- Saunders, G.W. & Hommersand, M.H. 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany* 91: 1494–1507.
- Savoie, A.M. & Saunders, G.W. 2016. A molecular phylogenetic and DNA barcode assessment of the tribe Pterosiphonieae (Ceramiales, Rhodophyta) emphasizing the Northeast Pacific. *Botany* 94: 917-939. doi: 10.1139/cjb-2016-0083
- Scagel, R.F. 1953. A morphological study of some dorsiventral Rhodomelaceae. *University of California Publications in Botany* 27: 1-108.
- Sentías, A. & Fujii, M.T. 2002. *El complejo Laurencia (Rhodomelaceae, Rhodophyta) en el Caribe mexicano*. In: A. Sentías & Dreckmann, K.M. (eds). *Monografías Ficológicas*. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa y Red Latinoamericana de Botánica, pp. 121-192.
- Sentías, A. & Díaz-Larrea, J. 2008. Proposals for *Palisada poiteau* var. *gemma* comb. nov. and *Palisada corallopsis* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina* 51: 69-70.
- Sentías, A., Díaz-Larrea, J., Cassano, V., Gil-Rodríguez, M.C. & Fujii, M.T. 2011. *Laurencia marilzae* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean: a new record for the tropical western Atlantic. *Bulletin of Marine Sciences* 87: 681-686.

- Sentías, A., Wynne, M.J., Cassano, V., Díaz-Larrea, J., Gil-Rodríguez, M.C & Fujii, M.T. 2015. *Yuzurua iridescens* (M.J. Wynne & D.L. Ballantine) comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Caribbean Sea: morphological and molecular evidence. *Brazilian Journal of Botany* 38: 1-9.
- Sentías, A., Cassano, V., Dreckmann, K.M., Gil-Rodríguez, M.C., Stein, E. & Fujii, M.T. 2016. *Chondrophyucus anabeliae* sp. nov. (Rhodophyta, Ceramiales), a rare species from the Mexican Caribbean. *Phytotaxa* 283: 259-270.
- Sentías, A., Dreckmann, K.M., Hernández, O.E., Núñez-Resendiz, M.L., Le Gall, L., Cassano, V. 2019. Diversity and distribution of *Laurencia sensu stricto* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Mexican Pacific, including *L. mutuae* sp. nov. *Phycological Research* 67: 1-12. doi: <https://doi.org/10.1111/pre.12382>
- Serio, D., Petrocelli, A., Cormaci, M., Cecere, E. & Furnari, G. 2008. First record of *Osmundea oederi* (Gunnerus) G. Furnari comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Mediterranean Sea. *Cryptogamie, Algologie* 29: 119-127.
- Serio, D., Furnari, G. and Metti, Y. 2020. Molecular analysis confirms *Laurenciella marilzae* (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea, a species often misidentified as *Laurencia dendroidea*. *Botanica Marina* 63: 527-535. <https://doi.org/10.1515/bot-2020-0030>
- Sherwood, A.R, Kurihara, A., Conklin, K.Y., Sauvage, T. & Presting, G.G. 2010. The Hawaiian Rhodophyta Biodiversity Survey (2006-2010): a summary of principal findings. *BMC Plant Biology* 10:258.
- Silva, P.C. 1972. Remarks on algal nomenclature. V. *Taxon* 21: 199-205
- Silva, P.C., Basson, P.W. & Moe, R.L. 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. *University of California Publications in Botany* 79: 1-1259.
- Silva León, G.A. 2010. *Typos y subtipos climáticos de Venezuela*. Trabajo de ascenso a la categoría de titular. Universidad de Los Andes, Facultad de ciencias forestales y ambientales, Departamento de Geografía Física.
- Solé, M. & Vera, B. 1997. Caracterización de las Macroalgas Marinas Bénticas en la Región Chirimena-Punta Caimán, estado Miranda, Venezuela. *Caribbean Journal of Science* 33: 180-190.
- Solé, M. & Barrios, J. 2009. Catálogo de las macroalgas marinas del Golfo de Paria y Delta del Orinoco, Venezuela. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales* 171: 99-112.
- Solé, M., Capelo, J. & Gutiérrez, J. 2010. Macroalgas marinas del norte de la península de Macanao, Isla de Margarita, Venezuela. *Fundación La Salle de Ciencias Naturales* 73: 7-24.

- Solé, M. & Pardo, P. 2010. Ficoflora marina del sur de la Península de Macanao, Isla de Margarita, Venezuela. II. *Acta Botanica Venezuelica* 33: 187-210.
- Stein, E. M., Andregueti, D. X., Rocha, C. S., Fujii, M. T., Baptista, M. S., Colepicolo, P. & Indig, G. L. 2011. Search for cytotoxic agents in multiple *Laurencia* complex seaweed species (Ceramiales, Rhodophyta) harvested from the Atlantic Ocean with emphasis on the Brazilian State of Espírito Santo. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21: 239-243.
- Stein, E. M., Colepicolo, P., Afonso, F. A. K. & Fujii, M. T. 2011. Screening for antifungal activities of extracts of the Brazilian seaweed genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21: 290-295.
- Stevens, R.D., Gavilanez, M.M., Tello, J.S. & Ray, D.A. 2012 Phylogenetic structure illuminates the mechanistic role of environmental heterogeneity in community organization. *Journal of Animal Ecology* 81: 455-462.
- Stoeckle, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the bar code of life. *BioScience* 53(9): 796-797.
- Suchard, M.A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, G. L., Drummond, A.J. & Rambaut, A. 2018, Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution* 4: vey016. doi: 10.1093/ve/vey016
- Swofford, D. L. 2000. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tang, C. Q., Humphreys, A. M., Fontaneto, D. & Barraclough, T. G. 2014. Effects of phylogenetic reconstruction method on the robustness of species delimitation using single-locus data. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 1086–1094. doi:10.1111/2041-210x.12246.
- Taylor, W. R. 1929. Notes on algae from the tropical Atlantic Ocean. *American Journal of Botany* 16: 621-630.
- Taylor, W. R. 1942. Caribbean marine algae of the Allan Hancock Expedition, 1939. *Rep. Allan Hancock Atlantic Exped.* 2 16: 193.
- Taylor, W. 1960. *Marine Algae of the Eastern Tropical and Subtropical Coasts of the Americas*. The University of Michigan Press (Ed.). Ambassador Books Ltd. Ann Arbor, Michigan. 870 pp.
- Taylor, W. 1976. A check-list of Venezuelan marine algae. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 22: 71-101.
- Teixeira, V.L. 2013. Produtos Naturais de Algas marinhas bentônicas. *Revista Virtual de Química* 5: 343-362.

- Torrano-Silva, N. B. 2015. *Taxonomy and phylogeny of Lithophylloideae (Rhodophyta) from Brazil*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica.
- Tsuda, R.T. & Abbot, I.A. 1985. Collecting, handling, preservation, and logistics, In Littler, M.M. and Littler, D.S. (eds.) *Handbook of Phycological Methods, vol. IV. Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge University Press, Cambridge/New York, pp. 67-86.
- Van de Peer, Y. & De Wachter, R. 1997. Evolutionary relationships among the eukaryotic crown taxa talking into account site-to-site rate variation in 18S rRNA. *J. Mol. Evol.* 45:619-30
- Veiga-Santos, P., Pelizzaro-Rocha, K. J., Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Dias-Filho, B. P., Silva, S. O., Sudatti, D. B., Bianco, E. M., Pereira, R. C. & Nakamura, C. V. 2010. In vitro anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*. *Parasitology* 137: 1661-1670.
- Vera, B. 1993. Contribución al conocimiento de las macroalgas asociadas a las praderas de *Thalassia testudinum* König. *Acta Botanica Venezuelica* 16:19-28.
- Vera, B. 1996. Registro ficoflorístico de la localidad de El Cusuy, Litoral Central de Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 19: 39-46.
- Vera, B. 2000. *Estudio Ficoflorístico de la Región Oriental del Litoral Central de Venezuela, Edo. Vargas, Venezuela*. Trabajo de Ascenso. Categoría Profesor Asistente. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 192 pp.
- Vera, B. 2004. *Estudio Ficoflorístico de la Comunidad de Macroalgas Marinas del Parque Nacional Morrocoy, Edo. Falcón, Venezuela*. Trabajo de Ascenso. Categoría Profesor Agregado. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 342 pp.
- Web Ficoflora Venezuela. 2022. Catálogo Digital de la Ficoflora de Venezuela. Publicación electrónica. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. <http://www.ciens.ucv.ve/ficofloravenezuela/> [Consulta 09 de marzo de 2022].
- Womersley, H.B.S. 1994. The marine benthic flora of southern Australia - Part IIIA - Bangiophyceae and Florideophyceae (Acrochaetiales, Nemaliales, Gelidiales, Hildenbrandiales and Gigartinales sensu lato). pp. 1-508, 167 Figuras, 4 pls, 4 maps. Canberra: Australian Biological Resources Study.
- Wynne M.J. 2017. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical Western Atlantic: fourth revision. *Nova Hedwigia Beiheft* 145: 1-202.

- Yang, E. C., Kim, M. S., Geraldino, P. J. L., Sahoo, D., Shin, J.A. & Boo, S.M. 2007. Mitochondrial *cox1* and plastid *rbcL* genes of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, doi 10.1007/s10811-007-9201-8.
- Yamada, Y. 1931. Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *University of California Publications in Botany* 16: t185-310.
- Yoon, H.S., Hackett, J. D., Pinto, G. & Bhattacharya, D. 2002. The single, ancient origin of chromist plastids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:15507-12
- Yoon, H.S., Hackett, J. D., Ciniglia, C., Pinto, G. & Bhattacharya, D. 2004. A molecular timeline for the origin of photosynthetic eucaryotes. *Molecular Biology and Evolution* 21: 809-18.
- Yoon, H.S., Muller, K.M., Sheath, R.G., Franklyn, D. O, Bhattacharya D. 2006. Dening the major lineages of red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 42 :482-492. doi: 10.1111/j.1529-8817.2006.00210.x
- Zablackis, E.K. & Mcdermid, K.J. 1988. Agar from a species of *Laurencia* a red seaweed from the Hawaiian Islands.Pp. 253-256. In: Abbott, I.A. (ed.) *Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Caribbean and Pacific species*. Vol. II. California Sea Grant College Program, La Jolla. California.
- Zhang, J., Kapli, R., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placments. *Bioinformatics, Advance Access* 29: 2869–2876.
- Zuccarello, G.C. & West, J. 2006. Molecular phylogeny of the subfamily Bostrychioideae (Ceramiales, Rhodophyta): subsuming *Stictosiphonia* and highlighting polyphyly in species of *Bostrychia*. *Phycologia* 45: 24-36.