

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 28/08/2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

NATALIA LEOCADIO ROSSIGNOLO

Revisão do gênero *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta)

São José do Rio Preto

2020

NATALIA LEOCADIO ROSSIGNOLO

Revisão do gênero *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta)

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2016/16320-2

Orientador: Prof. Dr. Orlando Necchi Junior

São José do Rio Preto

2020

R834r Rossignolo, Natalia Leocadio
 Revisão do gênero *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta) /
Natalia Leocadio Rossignolo. -- São José do Rio Preto, 2020
 121 f. : il., tabs.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto
de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
 Orientador: Orlando Necchi Junior

 1. Alga vermelha. 2. Freshwater algae. 3. Filogenia. 4. Molecular
Biology. 5. Morfologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

NATALIA LEOCADIO ROSSIGNOLO

Revisão do gênero *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta)

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 2016/16320-2

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Orlando Necchi Junior
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Profa. Dra. Mariana Cabral de Oliveira
USP – São Paulo

Profa. Dra. Mutue Toyota Fujii
Instituto de Botânica – São Paulo

Profa. Dra. Valéria Cassano
USP – São Paulo

Profa. Dra. Inessa Lacativa Bagatini
UFSCAR – São Carlos

São José do Rio Preto
28 de agosto de 2020.

“Aos meus amados pais, marido André Luiz e filho João Antonio,
por toda paciência, suporte e amor dedicados a min e que
sempre acreditaram que eu seria capaz de atingir meus
objetivos e alcançar meus sonhos”.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Orlando Necchi Jr., minha sincera gratidão por seus ensinamentos, pela confiança em mim depositada, pela compreensão, paciência, incentivo e orientação, para que pudéssemos concluir este trabalho.

Aos meus pais pelo alicerce, incentivo, paciência, carinho, e, principalmente, por estarem presentes em todos os momentos da minha vida.

Ao meu marido e filho por toda compreensão, paciência e amor dedicados a mim, e principalmente por estarem sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.

Aos meus sogros, Bernadete e Aston, por toda ajuda, apoio e incentivo durante esses anos.

Ao Ibilce, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista do campus de São José do Rio Preto, São Paulo, pelo espaço fornecido.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e aos funcionários da Seção de Pós-graduação, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista do campus de São José do Rio Preto, São Paulo, pelo incentivo e encaminhamento dos expedientes nas várias etapas do Doutorado.

Agradeço à fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de Doutorado (Proc. 2016/16320-2) e auxílio à pesquisa ao orientador (Proc. 2016/07808-1).

Aos colegas do Laboratório B.E.T.A. (Biologia, Ecologia e Taxonomia de Algas) pelo excelente convívio durante esse tempo.

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende”.

Leonardo da Vinci (Pensador, 2020)

RESUMO

Gêneros da ordem das algas vermelhas de águas continentais, Batrachospermales, foram recentemente investigados usando evidências moleculares e morfológicas, mas o gênero *Sirodotia* ainda não havia sido revisado. O presente estudo teve como objetivos: inferir as relações filogenéticas das espécies dentro do gênero *Sirodotia* e com outros gêneros da ordem Batrachospermales; conhecer os limites de variação intra e interespecífica com base na análise de três marcadores moleculares: gene plastidial que codifica a subunidade grande da RuBisCO (*rbcL*), região de “barcode” do gene mitocondrial que codifica a subunidade 1 da citocromo c oxidase (COI-5P) e região de “barcode” do gene nuclear que codifica a subunidade grande do ribossomo (rDNA LSU); e avaliar os caracteres morfológicos de valor diagnóstico para a delimitação de espécies do gênero em âmbito mundial à luz dos novos dados moleculares. Foram analisadas 40 amostras de *Sirodotia* provenientes de várias regiões do mundo, incluindo África, Ásia, Australásia, América do Norte, América do Sul e Europa, além de espécimes-tipo de seis espécies. Análises filogenéticas concatenadas e de um único gene (*rbcL*, COI-5P e LSU) mostraram o gênero *Sirodotia* como grupo monofilético com alto suporte, evidenciando clados ou grupos bem definidos, com nítida repartição biogeográfica delimitando as espécies, além de alta divergência interespecífica (2,1-8,1% e 4,4-10,5%) e baixa variação intraespecífica (0-2,4% e 0-3,8%) para *rbcL* e COI-5P, respectivamente. As análises das sequências de LSU revelaram valores de divergência interespecíficas menores (0,7-3,3%) do que as sequências de COI-5P indicando menor poder de resolução como “barcode”. Os caracteres morfológicos diagnósticos previamente utilizados para distinguir o gênero (carpogônio assimétrico com protuberância basal e carposporófito difuso com filamentos prostrados produzindo ramos eretos com carposporângios) foram confirmados neste estudo. Algumas espécies apresentaram padrão biogeográfico bem definido: *S. delicatuliformis* ocorrência no Brasil e Costa Rica, *S. amazonica* (regiões centro-oeste e norte do Brasil) e *S. cryptica* (centro-oeste do Brasil), *S. assamica* (nordeste da Índia), *S. aquiloamericana* (sul da América do Norte), *S. huillensis* (sul e sudeste da África) e *S. kennedyi* (centro-sul da África). Assim, distribuição geográfica pode ser usada como critério adicional para o reconhecimento dessas espécies. Os seguintes caracteres foram considerados diagnósticos para distinguir as espécies do gênero: número de células dos fascículos primários, arranjo

dos espermatângios, parte do carpogônio que produz os filamentos gonimoblásticos e dimensões do carposporângio. Com base na combinação de dados moleculares, morfológicos e biogeográficos foram reconhecidas nove espécies, cinco já descritas (*S. assamica*, *S. delicatula*, *S. huillensis*, *S. kennedyi* e *S. suecica*) e quatro novas espécies propostas neste trabalho (*S. amazonica*, *S. aquiloamericana*, *S. cryptica* e *S. delicatuliformis*). Das espécies previamente consideradas taxonomicamente aceitas no gênero, três (*S. cirrhosa*, *S. gardneri* e *S. huangshanensis*) não puderam ser reavaliadas, pois os espécimes tipo não estavam disponíveis para análise e os caracteres utilizados não foram considerados taxonomicamente informativos; e quatro espécies foram sinonimizadas neste trabalho (*S. segawae*, *S. sinica* e *S. yutakae* com *S. suecica*; e *S. ateleia* com *S. delicatula*).

Palavras-chave: Batrachospermales, COI-5P, LSU, *rbcL*, *Sirodotia*, morfologia, sistemática molecular.

ABSTRACT

Genera of the freshwater red algal order Batrachospermales were recently investigated using molecular and morphological evidences, but the genus *Sirodotia* had not yet been revised. The goals of this study were: to infer the phylogenetic relationships of the species within the genus *Sirodotia* and with other genera of the order Batrachospermales; to ascertain the limits of intra and interspecific variation, based on the analysis of three molecular markers: the plastid gene that encodes the RuBisCO large subunit (*rbcL*), the barcode region of the mitochondrial gene that encodes cytochrome *c* oxidase subunit 1 (COI-5P) and the barcode region of the nuclear gene that encodes the large ribosome subunit (rDNA LSU); and to evaluate the morphological characters of diagnostic value for delimitation of species in the genus worldwide in the light of the new molecular data. Forty samples of *Sirodotia* from different regions of the world were analyzed, including Africa, Asia, Australasia, North America, South America and Europe, in addition to type specimens of six species. Concatenated and single gene analyses showed the genus *Sirodotia* as a monophyletic group with high support, showing well-defined clades or groups, with clear biogeographic distribution delimiting species, in addition to high interspecific divergence (2.1-7% and 4.4-10.5%) and low intraspecific variation (0-2.4% and 0-3.8%) for *rbcL* and COI-5P, respectively. The analysis of the LSU sequences revealed lower interspecific divergence values (0.7-3.3%) than the COI-5P sequences (4.4-10.5%) indicating lower resolution as a barcode marker. The diagnostic morphological characters previously used to distinguish the genus (asymmetric carpogonium with basal protuberance and diffuse carposporophyte with prostrate filaments producing erect branches with carposporangia) were confirmed in this study. Some species showed a well-defined biogeographic pattern: *S. delicatuliformis* occurring in Brazil and Costa Rica, *S. amazonica* (midwestern and northern Brazil), *S. cryptica* (midwestern Brazil), *S. assamica* (northeastern India), *S. aquiloamericana* (southern North America), *S. huillensis* (southern and southeastern Africa) and *S. kennedyi* (south-central Africa). Thus, geographic distribution can be used as an additional criterion for the recognition of these species. The following characters were considered diagnostic to distinguish species in the genus: number of cells of the primary fascicles, arrangement of spermatangia, part of the carpogonium that produces the gonimoblastic filaments and dimensions of the carposporangia. On the basis of a combination of molecular, morphological and biogeographic data nine species were

recognized, five already described (*S. assamica*, *S. delicatula*, *S. huillensis*, *S. kennedyi* and *S. suecica*) and four new species proposed in this work (*S. amazonica*, *S. aquiloamericana*, *S. cryptica* and *S. delicatuliformis*). Among the remaining species taxonomically accepted in the genus, three (*S. cirrhosa*, *S. gardneri* and *S. huangshanensis*) could not be re-evaluated, because the type specimens were not available for analysis and the characters used were not considered taxonomically informative; and four species were synonymized in this study (*S. segawae*, *S. sinica* and *S. yutakae* with *S. suecica*; and *S. ateleia* with *S. delicatula*).

Keywords: Batrachospermales, COI-5P, LSU, molecular systematics, morphology, *rbcL*, *Sirodotia*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Filogenia das algas vermelhas segundo autores recentes (Muñoz-Gomes et al., 2017) com a proposição de um novo Subfilo, Proteorhodophytina .	16
Figura 2 – Maximum likelihood phylogenetic tree based on <i>rbcL</i> DNA sequences.	35
Figura 3 – Distance tree (neighbor joining) of COI-5P DNA sequences for <i>Sirodotia</i> species and Batrachospermales outgroup taxa.	36
Figura 4 – <i>Sirodotia assamica</i> sp. nov.	39
Figura 5 – Phylogenetic tree (ML) showing the relationship of species within <i>Sirodotia</i> and genera of the Batrachospermales and Thoreaales based on <i>rbcL</i> , COI-5P and LSU concatenated sequence data.	63
Figuras 6-10 – <i>Sirodotia amazonica</i> (photomicrographs of the holotype, SJRP 31924).	77
Figuras 11-15 – <i>Sirodotia aquiloamericana</i> (photomicrographs of the holotype, BHO-0437).	77
Figuras 16-21 – <i>Sirodotia assamica</i> (photomicrographs of SJRP 32583, SJRP 32584).	78
Figuras 22-26 – <i>Sirodotia cryptica</i> (photomicrographs of the holotype, samples SJRP 32575).	78
Figuras 27-31 – <i>Sirodotia delicatula</i> (photomicrographs of BHO A-0984).	79
Figuras 32-38 – <i>Sirodotia delicatuliformis</i> (photomicrographs of holotype, SJRP 31918).	79
Figuras 39-44 – <i>Sirodotia huillensis</i> (photomicrographs of BHO A-1447).	80
Figuras 45-47 – <i>Sirodotia kennedyi</i> (photomicrographs of BHO A-0946).	80
Figuras 48-52 – <i>Sirodotia suecica</i> (photomicrographs of BHO A-0266, SJRP32582, SJRP32583).	80
Fig. S1 – Maximum likelihood phylogenetic tree based on <i>rbcL</i> .	111
Fig. S2 – Distance tree (neighbor-joining) based on COI-5P sequences.	112
Fig. S3 – Graphical representation of the results of Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) for the COI-5P sequences of the <i>Sirodotia</i> genus used in this study.	113
Fig. S4 – Distance tree (neighbor-joining) based on LSU sequences.	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Gêneros da ordem Batrachospermales, família Batrachospermaceae.	19
Tabela 2 – Description of collecting sites and GenBank accession numbers for samples of <i>Sirodotia assamica</i> sp. nov. from India analyzed in this study.	33
Tabela 3 – Comparative morphology and distribution of <i>Sirodotia</i> species.	40
Tabela 4 – Relação das espécies <i>Sirodotia</i> anteriormente consideradas taxonomicamente aceitas e as reconhecidas neste estudo. Os nomes em negrito indicam as nove espécies reconhecidas neste estudo.	116
Table S1 – Sequences of <i>rbcL</i> for <i>Sirodotia</i> species from Genbank used in the analysis.	46
Table S2 – Sequences of COI-5P for <i>Sirodotia</i> species obtained from Genbank used in the analyses.	48
Table S3 – Morphological characters of <i>Sirodotia assamica</i> sp. nov. specimens examined in this study.	49
Table S4 – Reproductive characters of <i>Sirodotia assamica</i> sp. nov. specimens examined in this study.	50
Table S5 – Species, collection information, and GenBank accession numbers for specimens of <i>Sirodotia</i> used in this study.	94
Table S6 – Sequences of <i>rbcL</i> , COI-5P and LSU <i>Sirodotia</i> species obtained from Genbank used in the analyzes.	98
Table S7 – Outgroup sequences used in <i>rbcL</i> , COI and LSU concatenated alignment for phylogenetic analyses.	99
Table S8 –Morphological characters of <i>Sirodotia</i> specimens examined in this study or reported in relevant works.	101
Table S9 – Reproductive characters of <i>Sirodotia</i> specimens examined in this study or reported in relevant works.	104
Table S10 – Comparative morphological characters and geographic distribution of some species of <i>Sirodotia</i> .	108

APRESENTAÇÃO DA TESE

O presente trabalho consiste em uma revisão mundial do gênero *Sirodotia* (Rhodophyta, Batrachospermales). Está estruturado em dois capítulos, precedidos por uma introdução geral e seguidos por conclusões gerais. Os dois capítulos são referentes a dois artigos: o primeiro capítulo representa a primeira parte do trabalho (artigo publicado) com a descrição de uma nova espécie de *Sirodotia* para o continente Asiático (Índia); o segundo capítulo corresponde ao trabalho geral deste projeto, referente a revisão mundial de *Sirodotia* contendo as análises dos três marcadores utilizados, parte taxonômica com chave de identificação, descrição das espécies reconhecidas, discussão e conclusões referentes aos resultados gerais obtidos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
1.1. O gênero <i>Sirodotia</i>	20
1.2. Hipóteses e objetivos gerais do estudo.....	21
1.2.1. Hipotéses.....	21
1.2.2. Objetivos.....	22
1.3. Referências.....	23
2. CAPÍTULO 1: Molecular and morphological evidence for a new species in the genus <i>Sirodotia</i> (Batrachospermales, Rhodophyta) from the State of Assam, India	28
2.1. Abstract	29
2.2. Introduction	30
2.3. Material and Methods	32
2.4. Results And Discussion	34
2.4.1. Molecular analyses.....	34
2.4.2. Morphological analyses.....	37
2.5. Conclusion	41
2.6. References.....	41
2.7. Supporting Information.....	45
3. CAPÍTULO 2: Revision of the genus <i>Sirodotia</i> (Batrachospermales, Rhodophyta) with description of four new species	51
3.1. Abstract	52
3.2. Introduction	53
3.3. Material and Methods	56
3.3.1. Morphological analyses.....	56
3.3.2. Molecular analyses.....	58
3.4. Results.....	60
3.4.1. Molecular analyses.....	60
3.4.2. Morphological analyses.....	63
3.4.2.1 Taxonomic Treatment.....	64
3.4.2.2. Species description.....	66
3.4.2.3. Doubtful species.....	81
3.5. Discussion	81
3.6. References.....	85
3.7. Supporting Information.....	92
4. CONCLUSÕES GERAIS	115
REFERÊNCIAS.....	119

1. INTRODUÇÃO GERAL

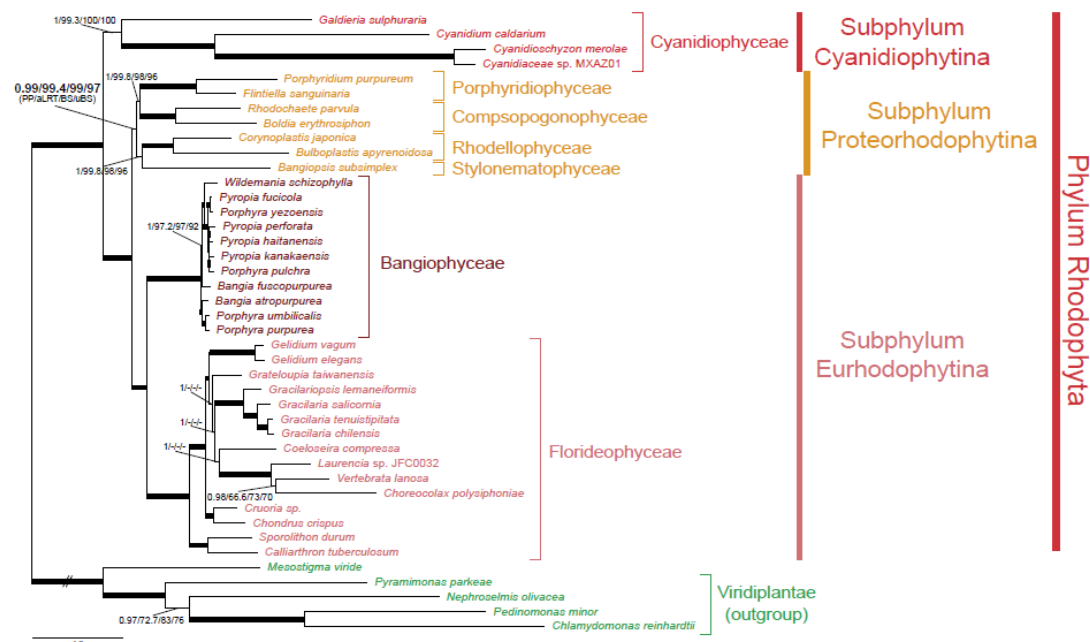
O filo Rhodophyta representa umas das linhagens mais antigas de algas e é considerado um grupo irmão das algas verdes e das glaucófitas, todos com cloroplastos derivados de endossimbiose primária (LOPEZ-BAUTISTA, 2010; DE CLERCK *et al.*, 2012). As rodófitas são, em sua maioria, macroscópicas, fotossintetizantes e habitantes de ambientes marinhos (98%), mas muitos táxons ocorrem exclusivamente em habitats de água doce e nascentes de água quente e ácida. Algumas rodófitas também foram relatadas em florestas tropicais como membros de comunidades subaéreas (YOON *et al.*, 2004; GURGEL & LOPEZ-BAUTISTA, 2007). Em regiões tropicais e subtropicais dos ecossistemas marinhos costeiros, Rhodophyta representa mais de 60% das macroalgas (NORTON *et al.*, 1996). As rodófitas continentais ocorrem geralmente em águas correntes e estão amplamente distribuídas em bacias de drenagem de regiões árticas a tropicais (NECCHI *et al.*, 1999). No Brasil foram registradas 39 espécies de rodófitas continentais (NECCHI, 2017; dados não publicados).

As algas vermelhas representam um distinto grupo de organismos que possuem apenas clorofila a, contêm ficobiliproteínas (aloficocianina, ficocianina e ficoeritrina) responsáveis pela coloração geralmente avermelhada destas algas, que ocorrem na forma de ficobilissomos em tilacoides não empilhados. Os membros desse grupo não apresentam flagelos e centríolos em nenhum estágio de vida (GABRIELSON *et al.*, 1990; GRAHAM & WILCOX, 2009). O cloroplasto é envolto por duas membranas e produz amido das florídeas (material de reserva), que é armazenado no citoplasma. Atualmente é amplamente aceito que o cloroplasto das algas vermelhas se originou através da endossimbiose primária de uma cianobactéria, sendo que essa organela compartilha um ancestral comum com as algas verdes e glaucófitas (BHATTACHARYA *et al.*, 2004; RODRIGUEZ-EZPELETA *et al.*, 2005).

O sistema de classificação do filo Rhodophyta tem passado por modificações importantes com base em estudos moleculares e ultraestruturais que visam melhor representar as relações filogenéticas (SAUNDERS & HOMMERSAND, 2004; YOON *et al.* 2006; QIU *et al.*, 2016). Até o fim dos anos noventa, o filo Rhodophyta era dividido em duas classes ou subclasses, Florideophyceae (Florideophycideae) e Bangiophyceae (Bangiophycideae), baseadas nas características morfológicas e histórico de vida (SHEATH, 1984; GABRIELSON *et al.*, 1985; GARBARY &

GABRIELSON, 1990). Estudos moleculares têm se baseado amplamente em alguns genes plastidiais e nucleares focados em uma ampla diversidade de linhagens dentro das Florideophyceae. Uma das primeiras consequências dessas análises foi a separação do filo Rhodophyta em dois subfilos, Cyanidiophytina com uma única classe Cyanidiophyceae, e o subfilo Rhodophytina composto por seis classes: Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae, Porphyridiophyceae, Rhodellophyceae e Stylonematophyceae (YOON *et al.*, 2006). As classes Bangiophyceae e Florideophyceae formaram um grupo monofilético, mas as relações entre as classes restantes permaneceram controversas (MULLER *et al.*, 2001; YOON *et al.*, 2006, 2010; YANG *et al.*, 2010; SCOTT *et al.*, 2011). Em estudo recente, Muñoz-Gomes *et al.* (2017) aplicaram análise filogenômica a um rico conjunto de dados de genomas plastidiais e propuseram um novo subfilo Proteorhodophytina composto por quatro classes: Porphyridiophyceae, Compsopogonophyceae, Rhodellophyceae e Stylonematophyceae. Algas destes grupos apresentaram os maiores genomas plastidiais já sequenciados até o presente.

Figura 1. Filogenia das algas vermelhas segundo autores recentes (Muñoz-Gomes *et al.*, 2017) com a proposição de um novo Subfilo, Proteorhodophytina.



Fonte: Muñoz-Gomes *et al.*, 2017.

No outro subfilo (Eurhodophytina) encontra-se a classe Florideophyceae que forma uma linhagem monofilética contendo aproximadamente 7.000 espécies descritas (GUIRY, 2012) que exibem uma grande variedade de estruturas

morfológicas e ultraestruturais e possuem estratégias reprodutivas complexas. Acredita-se que o número de espécies possa chegar a 20.000 devido às recentes descobertas de espécies crípticas (GRAHAM & WILCOX, 2009). Elas representam cerca de 95% dos táxons conhecidos de algas vermelhas e são importantes fontes de alimentos (por exemplo, nori) e produtos industriais (por exemplo, ágar e carragenana) (QIU *et al.*, 2015). O número de ordens reconhecidas varia de 16 (YOON *et al.*, 2006) a 23 (LE GALL & SAUNDERS, 2007) e tende a crescer com a realização de estudos de grupos específicos baseados em dados moleculares.

As ordens e famílias de Florideophyceae foram classificadas, em grande parte, com base no tipo de histórico de vida e o modo de reprodução sexuada. Membros desta classe crescem por meio de células apicais e consistem de filamentos ramificados nos quais as células estão ligadas através de “pit-connections” (conexões intercelulares entre células adjacentes), as quais, em nível estrutural, formam os chamados “pit-plugs” (GRAHAM & WILCOX, 2009). As características ultraestruturais dos “pit-plugs”, como número e arranjo das camadas, são importantes para delimitação das ordens. Vários tipos de “pit-plugs” foram identificados por diferirem no número de “cap layers” (zero, um ou dois) e pela presença ou ausência de uma “cap membrane”. Nove ordens (Hildenbrandiales, Corallinales, Acrochaetiales, Palmariales, Batrachospermales, Ahnfeltiales, Bonnemaisoniales, Gracilariales e Rhodogorgonales) foram estabelecidas principalmente pelas características ultraestruturais dos “pit-plugs” (PUESCHEL & COLE, 1992; FRESHWATER *et al.*, 1994; LEE, 2008; ELORANTA *et al.*, 2011).

Dentro da classe Florideophyceae, na subclasse Nemaliophycidae, encontram-se as rodófitas exclusivamente de águas continentais que pertencem às ordens Balbaniales, Batrachospermales e Thorealess (LAM *et al.*, 2015). A maior parte da diversidade de espécies de algas vermelhas de água doce encontra-se na ordem Batrachospermales com aproximadamente 200 espécies em 19 gêneros (ENTWISLE *et al.*, 2009; GUIRY & GUIRY, 2020). Batrachospermales é distinta das demais ordens de Nemaliophycidae com base na seguinte combinação de caracteres: (i) talos heterotríqueos, uniaxiais, gelatinosos ou cartilagosos; (ii) células axiais com filamentos assimiladores laterais de crescimento determinado; (iii) “pit-plug” com duas camadas, com a camada externa expandida e abaulada; (iv) ausência de tetrasporângio e ocorrência de meiose somática dando origem a eixos haplóides; e (v) múltiplos cloroplastos discóides sem pirenoides; (PUESCHEL & COLE, 1982;

GARBARY & GABRIELSON, 1990; KUMANO, 2002; ENTWISLE *et al.*, 2009; PAIANO *et al.*, 2018).

A ordem Batrachospermales era tradicionalmente composta por três famílias: Batrachospermaceae, Lemaneaceae e Psilosiphonaceae (SAUNDERS & HOMMERSAND, 2004). Batrachospermales foi foco de revisão por Entwisle *et al.* (2009), o qual representa o esquema taxonômico mais recente e amplo para a ordem. As principais novidades, além do reconhecimento de uma única família (Batrachospermaceae com nove gêneros) foram: reconhecimento provisório do gênero *Batrachospermum*, visto que tem sido demonstrado como parafilético em todas análises filogenéticas moleculares; proposição do novo gênero *Kumanoa*, resultado da elevação das antigas seções *Contorta* e *Hybrida* do gênero *Batrachospermum*; e o reconhecimento de oito seções no gênero *Batrachospermum* – *Acarposporophytum* (rebaixado do nível subgênero para seção), *Aristata*, *Batrachospermum*, *Macrospora* (separada de *Aristata*), *Setacea*, *Turfosa* e *Virescentia*. Para a maioria das seções havia grande carência de análises representativas incluindo maior número de espécies e de populações de cada espécie. A elevação de grupos monofiléticos menores (geralmente conhecidos como seções de *Batrachospermum*) para o nível gênero tem sido uma clara tendência na taxonomia do grupo nos últimos anos. A antiga seção *Helminthoidea* foi elevada para gênero (*Sheathia*) baseado em caracteres morfológicos e análises filogenéticas de três marcadores moleculares (SALOMAKI *et al.*, 2014). A seção *Setacea* foi também elevada a gênero por Rossignolo & Necchi (2016) com base em dados morfológicos e moleculares e o nome posteriormente alterado para *Torularia* (WYNNE, 2019). As seções relacionadas a seguir foram elevadas a gêneros em estudos recentes com base em evidências morfológicas e moleculares: *Virescentia* (NECCHI *et al.*, 2018), *Acarposporophytum* (gênero *Acarposporophycos*, NECCHI *et al.*, 2019a), *Aristata* (gênero *Visia*, NECCHI *et al.*, 2019a), *Macrospora* (gênero *Montagnia*, NECCHI *et al.*, 2019b) e *Turfosa* (gênero *Paludicola*, VIS *et al.*, 2020). A tabela 1 resume os gêneros de Batrachospermales atualmente reconhecidos, as antigas seções a que pertenciam e a distribuição geográfica mundial.

Tabela 1. Gêneros da ordem Batrachospermales, família Batrachospermaceae.

Gêneros	Seções antigas	Distribuição	Referências
<i>Acarosporophycos</i>	<i>Acarosporophytum</i>	América do Sul	Necchi (1987), Necchi <i>et al.</i> (2019a)
<i>Balliopsis</i>	-	América do Sul, África e Ásia	Saunders & Necchi (2002)
<i>Batrachospermum</i>	-	África, América do Norte, América do Sul, Ásia, Australasia e Europa	Roth (1797), Kumano (2002), Guiry & Guiry (2020)
<i>Kumanoa</i>	<i>Contorta e Hybrida</i>	África, América do Norte, América do Sul, Ásia, Australasia e Europa	Sirodot (1873), Skuja (1931), Entwisle <i>et al.</i> (2009), Necchi & Vis (2012)
<i>Lemanea</i>	-	América do Norte, Ásia, Europa	Bory (1808)
<i>Lympha</i>		América do Norte	Evans <i>et al.</i> (2017)
<i>Montagnia</i>	<i>Macrospora</i>	África, América do Norte, América do Sul e Ásia	Kumano (1993), Necchi <i>et al.</i> (2019b)
<i>Nocturama</i>	<i>Batrachospermum</i>	América do Sul, Australásia	Entwisle <i>et al.</i> (2016)
<i>Nothocladus</i>	<i>Batrachospermum</i>	África, Ásia e Australásia	Skuja (1934), Schneider & Wynne (2007), Entwisle <i>et al.</i> (2016)
<i>Paludicola</i>	<i>Turfosa</i>	América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa	Sirodot (1873), Vis <i>et al.</i> (2020)
<i>Paralemanea</i>	-	América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa	Vis & Sheath (1992)
<i>Petrohua</i>	-	América do Sul	Vis <i>et al.</i> (2007), Schneider & Wynne (2007)
<i>Psilosiphon</i>	-	Australásia	Entwisle (1989)
<i>Sheathia</i>	<i>Helminthoidea</i>	África, América do Norte, Ásia, Australasia e Europa	Sirodot (1973), Salomaki <i>et al.</i> (2014)
<i>Sirodotia</i>	-	África, América do Norte, América do Sul, Australásia, Ásia e Europa	Kylin (1912), Lam <i>et al.</i> (2012)
<i>Torularia</i>	<i>Setacea</i>	África, América do Norte, América do Sul, Ásia, Australásia e Europa	Rosignolo & Necchi (2016), Wynne (2019)
<i>Tuomeya</i>	-	América do Norte	Harvey (1858), Kaczmarczyk <i>et al.</i> (1992), Kumano (2002)
<i>Virescentia</i>	<i>Virescentia</i>	América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa	Sirodot (1873), Necchi <i>et al.</i> (2018)
<i>Visia</i>	<i>Aristata</i>	América do Sul, Ásia e Australásia	Skuja (1933), Necchi <i>et al.</i> (2019a)
<i>Volatus</i>	-	América do Norte e Europa	Chapuis <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Produção do autor

1.1. O gênero *Sirodotia*

Dentre as rodófitas continentais da ordem Batrachospermales, *Sirodotia* é um gênero amplamente distribuído no mundo todo (LAM *et al.*, 2012). O gênero foi proposto por Kylin (1912) dentro de Batrachospermaceae com base na espécie tipo *S. suecica*. Apresenta morfologia similar ao gênero *Batrachospermum* e aos gêneros mais recentemente segregados como *Kumanoa* e *Virescentia* (ENTWISLE *et al.* 2009, LAM *et al.* 2012). O gênero *Sirodotia* se diferencia dos demais gêneros da família por apresentar carpogônio com base assimétrica (com uma protuberância) e carposporófito difuso que se estende ao longo do eixo principal, consistindo de filamentos gonimoblásticos indeterminados e prostrados, que produzem pequenos filamentos eretos determinados, sobre os quais se desenvolvem os carposporângios (NECCHI *et al.*, 1993; KUMANO, 2002; NECCHI *et al.*, 2007; LAM *et al.*, 2012). As espécies do gênero têm sido reconhecidas com base em alguns caracteres morfológicos, como morfologia vegetativa do gametófito, presença de espermatângios em ramos especializados, posição do ramo carpogonial, origem dos filamentos gonimoblásticos em relação ao carpogônio e tamanho do carpogônio e carposporângio (NECCHI *et al.*, 1993; KUMANO, 2002; NECCHI *et al.*, 2007). Atualmente existem 13 espécies taxonomicamente aceitas em *Sirodotia* (KUMANO, 2002; OTT, 2009; GUIRY & GUIRY, 2020): *S. assamica*, *S. cirrhosa*, *S. delicatula*, *S. gardneri*, *S. huangshanensis*, *S. huillensis*, *S. iyengaraii*, *S. kennedyi*, *S. polygama*, *S. segawae*, *S. sinica*, *S. suecica* e *S. yutakae*. Porém, poucas espécies foram analisadas com base em dados moleculares e morfológicos.

O gênero *Sirodotia* tem sido reconhecido como um grupo distinto e monofilético em vários estudos, tanto com base em dados morfológicos (NECCHI *et al.*, 1993; KUMANO, 2002; NECCHI *et al.*, 2007), quanto moleculares (VIS & SHEATH, 1999; LAM *et al.*, 2012; PAIANO & NECCHI, 2013; JOHNSTON *et al.*, 2014). Estudos moleculares sobre o gênero *Sirodotia* têm contribuído para melhor compreensão sobre a taxonomia infra-genérica (VIS & SHEATH, 1999; NECCHI *et al.*, 2007; PAIANO & NECCHI, 2013; JOHNSTON *et al.*, 2014). Esses estudos mostraram que a diversidade genética é grande entre as espécies, levando à sinonimização de algumas espécies (*S. tenuissima* sinônimo de *S. suecica*) e à distinção genética e morfológica de outras (*S. huillensis* e *S. delicatula*). Além disso, esses estudos têm apontado a ocorrência de espécies crípticas com alto nível de divergência genética, porém sem a correspondente distinção morfológica, em alguns casos, apenas

geográfica. Em um estudo recente sobre o gênero *Sirodotia* (LAM *et al.*, 2012) com a inclusão de um número expressivo de sequências de algumas regiões do globo foi encontrada provável espécie nova de amostra da África do Sul (referida como *S. aff. huillensis*). Paiano *et al.* (2013) por meio de estudos filogeográficos com *S. delicatula*, indicaram a existência de espécies crípticas no Brasil. Ademais, estudos moleculares realizados por Johnston *et al.* (2014) revelaram que os espécimes de *S. delicatula* da Malásia e do Brasil não são semelhantes geneticamente, sugerindo que o espécime da Malásia representa *S. delicatula*, enquanto que a espécie brasileira deve tratar-se de espécie distinta.

Os dados filogenéticos moleculares já apresentados para o gênero *Sirodotia*, assim como para outros gêneros e seções da ordem Batrachospermales, têm revelado numerosos casos de espécies crípticas (LAM *et al.*, 2012; PAIANO & NECCHI, 2013; AGOSTINHO *et al.*, 2014; ROSSIGNOLO & NECCHI, 2016; NECCHI *et al.*, 2019a, 2019b; VIS *et al.*, 2019). Assim como nos gêneros e seções de *Batrachospermum*, as relações filogenéticas, limites de variação e diversidade genética entre espécies precisam de um estudo mais detalhado baseado em dados morfológicos e moleculares. A utilização de ferramentas moleculares para auxílio na taxonomia e biogeografia de algas tem contribuído no aprimoramento do esquema de identificação de táxons não somente nas descontinuidades na variação morfológica para distinguir espécies, mas com a utilização de dados genéticos e/ou geográficos (SAUNDERS, 2005). Dentre os gêneros de Batrachospermales que têm numerosas espécies, *Sirodotia* é um dos poucos que ainda não foi completamente revisado. Considerando este conjunto de informações e que poucas espécies têm sido reconhecidas mundialmente com base em dados moleculares e morfológicos o presente estudo foi proposto.

1.2. HIPÓTESES E OBJETIVOS GERAIS DO ESTUDO

1.2.1. Hipóteses

Com base nas informações atualmente disponíveis (morfológicas e moleculares) sobre representantes do gênero *Sirodotia* em âmbito mundial, as seguintes hipóteses gerais foram testadas:

1. O gênero *Sirodotia* será confirmado como grupo monofilético dentro da ordem Batrachospermales. Se a hipótese for corroborada, o gênero será reconhecido como

distinto dentro da ordem e confirmará conclusões de outros estudos filogenéticos (VIS *et al.*, 1998; VIS & SHEATH, 1999; NECCHI *et al.*, 2007; ENTWISLE *et al.*, 2009; PAIANO & NECCHI 2013);

2. Espécies atualmente reconhecidas com base em caracteres morfológicos serão corroboradas pelos dados moleculares. E espécies novas, particularmente espécies crípticas, deverão ser encontradas e reconhecidas como espécies distintas dentro do gênero;

3. Os caracteres morfológicos atualmente usados para distinguir as espécies do gênero - presença de espermatângios em ramos especializados, posição do carpogônio que produz os filamentos gonimoblásticos e dimensões do carpogônio e carposporângio (NECCHI *et al.*, 1993; KUMANO, 2002; NECCHI *et al.*, 2007) – deverão ser corroborados pelos dados moleculares;

4. A biogeografia das espécies deverá ser um caráter adicional importante para a determinação de novas espécies, visto que os dados disponíveis indicam que algumas espécies apresentam nítida repartição geográfica.

1.2.2. Objetivos

Para testar estas hipóteses desenvolvemos o presente trabalho com os seguintes objetivos:

1. Inferir as relações filogenéticas das espécies dentro do gênero *Sirodotia* e com as de outras de outros gêneros da ordem Batrachospermales, com base na análise das sequências do gene plastidial que codifica a subunidade grande da RuBisCO (*rbcL*), da região de “barcode” do gene mitocondrial que codifica a subunidade 1 da citocromo *c* oxidase (COI-5P) e da região de “barcode” do gene nuclear que codifica a subunidade grande do ribossomo (LSU);

2. Fornecer subsídios para melhor definição dos limites de variação interespecífica com base na análise das sequências desses três marcadores;

3. Avaliar quais caracteres morfológicos têm valor diagnóstico, inclusive à luz dos novos dados moleculares, para a delimitação de espécies do gênero *Sirodotia* e circunscrever as espécies reconhecidas no gênero em âmbito mundial.

1.3. REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, D. C; NECCHI, O. Jr. Systematics of the section *Virescentia* of the genus *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Brazil. **Phycologia**, v.53, n. 5, 2014.
- BHATTACHARYA, D.; YOON, H. S.; HACKETT, J. D. Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. **Bio Essays**, v. 26, p. 50-60, 2004.
- BORY DE SAINT-VINCENT, [J.B.G.M.]. Mémoire sur le genre *Lemanea* de la famille des Conferves. **Annales du Muséum d'Histoire Naturelle**, v. 12, p. 177-190, 1808.
- DE CLERCK, O.; BOGAERT, K.A.; LELIAERT, F. Diversity and evolution of algae: primary endosymbiosis. **Advances in Botanical Research**, v. 64, p. 55-8, 2012.
- ENTWISLE, T.J. *Psilosiphon scoparium* gen. et sp. nov. (Lemaneaceae), a new red alga from south-eastern Australian streams. **Phycologia**, v. 28, p. 469-475, 1989.
- ELORANTA P., KWANDRANS J., KUSEL-FETZMANN E. *Rhodophyta and Phaeophyceae*. In Freshwater Flora of Central Europe, Heidelberg: Spectrum Akademischer Verlag, p. 57–59, 2011.
- ENTWISLE, T.J.; JOHNSTON, E.T.; LAM, D.W.; STEWART, S.A. & VIS, M.L. *Nocturama* gen. nov., *Nothocladus* s. lat. and other taxonomic novelties resulting from the further resolution of paraphyly in Australasian members of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 52, p. 384-396, 2016.
- ENTWISLE, T. J.; VIS, M. L.; CHIASSON, W. B.; NECCHI, O. J.; SHERWOOD, A. R. Systematics of the Batrachospermales (Rhodophyta) - a synthesis. **Journal of Phycology**, v. 45, p. 704-715, 2009.
- EVANS, J.R., CHAPUIS, I.S. & VIS, M.L. Adding to the freshwater red algal diversity in North America: *Lympha mucosa* gen. et sp. nov. (Batrachospermales, Rhodophyta). **Algae**, v. 32, p. 171-179, 2017.
- FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B. D.; PRADO, J. F.; RÉZIG, S. H. **Algas: Uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Artmed Editora, 2010. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=XgEluMvQDZIC>.
- FRESHWATER, D.W.; FREDERICQ, S.; BUTLER, B.S.; HOMMERSAND, M.H.; CHASE, M.W. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 91, p. 7281-7285, 1994.
- GABRIELSON, P. W.; GARBARY, D. J.; SCAGEL, R. F. The nature of the ancestral red alga: inferences from a cladistic analysis. **Biosystems**, v. 18, p. 335–46, 1985.
- GABRIELSON, P. W.; GARBARY, D. J.; SOMMERFELD, M. R.; TOWNSEND, R. A.; TYLER, P. L. **Phylum Rhodophyta. In: Handbook of Protoctista: The Structure, Cultivation, Habitats and Life Histories of the Eukaryotic Microorganisms and Their Descendants Exclusive of Animals, Plants and Fungi**. Jones and Bartlett Pub., Boston, 1990.
- GARBARY, D. J.; GABRIELSON, P. W. **Taxonomy and evolution. In Biology of the Red Algae**. Cambridge University Press, New York, 1990.

- GRAHAM, L. E.; WILCOX, L. W. **Algae**. Prentice-Hall, New Jersey, 2009.
- GUIRY, M.D. How many species of algae are there? **Journal of Phycology**, v.48, p. 1057-63, 2012.
- GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from: <http://www.algaebase.org> (accessed 18 July 2020).
- GURGEL, C. F. D.; LOPEZ-BAUTISTA, J. **Red algae, In: Encyclopedia of Life Sciences**. Wiley, Chichester, UK, 2007.
- HARVEY, W.H. *Nereis boreali-americanana*: or, contributions to a history of the marine Algae of North America. Part III. Chlorospermeae. **Smithsonian Contributions to Knowledge**, v. 10, p. 1-140, 1858.
- JOHNSTON, E. T.; LIM, P.E., BUHART, N.; KEIL, E. J.; DJAWAD, M. I.; VIS, M. L. Diversity of freshwater red algae (Rhodophyta) in Malaysia and Indonesia from morphological and molecular data. **Phycologia**, v. 53, p. 329-341, 2014.
- KACZMARCZYK, D., SHEATH, R.G. & COLE, K.M. Distribution and systematics of the fresh water genus *Tuomeya* (Rhodophyta, Batrachospermaceae). **Journal of Phycology**, v. 28: 850-855, 1992.
- KUMANO, S. Taxonomy of the family Batrachospermaceae (Batrachospermales, Rhodophyta). **Japanese Journal of Phycology**, v. 41, 253-272, 1993.
- KUMANO, S. Freshwater red algae of the world. **Bristol, Biopress Ltd**, p. 375, 2002.
- KYLIN, H. Studien über die Schwedischen Arten der Gattungen *Batrachospermum* und *Sirodotia* nov. gen. **Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsal**. Sér 4, v. 3, p. 1-40, 1912.
- LAM, D., ENTWISLE, T.J., ELORANTA, P., KWANDRAS, J.; VIS, M.L. Circumscription of species in the genus *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. **Europeana Journal of Phycology**, v. 47, p. 42-50, 2012.
- LAM, D. W., VERBRUGGEN, H., SAUNDERS, G. W. & VIS, M. L. Multigene phylogeny of the red algal subclass Nemaliophycidae. **Molecular Phylogenetic Evolution**, v. 94, p. 730–736, 2015.
- LEE, R. E. **Rhodophyta, In: Phycology**. 4. ed. New York: Cambridge University Press, 2008. p. 89-132.
- LE GALL, L.; SAUNDERS, G. W. A nuclear phylogeny of the Florideophyceae (Rhodophyta) inferred from combined EF2, small subunit and large subunit ribosomal DNA: establishing the new red algal subclass Corallinophycidae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 43, p. 1118-30, 2007.
- LOPEZ-BAUTISTA, J. M. **Red algal genomics: A synopsis. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology**. Springer; 1st Edition, 2010. 526.
- MULLER, K. M.; OLIVEIRA, M. C.; SHEATH, R. G.; BHATTACHARYA, D. Ribosomal DNA phylogeny of the Bangiophycidae (Rhodophyta) and the origin of secondary plastids. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1390-400, 2001.

- MUNÕZ-GOMEZ, S.A.; MEJÍA-FRANCO, F. G.; DURNIN, K.; COLP, M.; GRISDALE, C.J.; ARCHIBALD, J.M.; SLAMOVITS, C.H. The New Red Algal Subphylum Proteorhodophytina Comprises the Largest and Most Divergent Plastid Genomes Known. **Current Biology Report**, v. 27, p. 1677-1684, 2017.
- NECCHI, O. JR. Studies on the freshwater Rhodophyta of Brazil – 3, *Batrachospermum brasiliense* sp. nov. from the state of São Paulo, southern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 47, p. 441-446, 1987.
- NECCHI, O. JR. **Rhodophyceae**. In: BICUDO, C.E.M., MENEZES, M. (Eds.), Gêneros de algas de águas continentais do Brasil – chave para identificação e descrições. Ed. Rima, São Carlos, p. 505-516, 2017.
- NECCHI, O. JR.; BRANCO, C.C.Z.; BRANCO, L.H.Z. Distribution of Rhodophyta in streams from São Paulo State, southeastern Brazil. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 147, p. 73-89, 1999.
- NECCHI, O. JR., SHEATH, R. G., COLE, K. M. Distribution and systematics of the genus *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America. **Journal of Phycology**, v. 29, p. 236-243, 1993.
- NECCHI, O. JR.; VIS, M.L. **Monograph of the genus Kumanoa (Rhodophyta, Batrachospermales)**. Stuttgart, J. Cramer in der GebrüderBorntraeger Verlagsbuchhandlung, 2012. 79 p. ISBN 9783443600433 (pbk.)0067-8112.
- NECCHI, O. JR., VIS, M.L. & OLIVEIRA, M.C. Phylogenetic relationship of *Sirodotia* species (Batrachospermales, Rhodophyta) in North and South America. **Cryptogamie, Algologie**, v. 27, p. 117-127, 2007.
- NECCHI, O. JR.; AGOSTINHO, D.C.; VIS, M. L. Revision of *Batrachospermum* section *Virescentia* (Batrachospermales, Rhodophyta) with the establishment of the new genus, *Virescentia* stat. nov. **Cryptogamie, Algologie**, v. 39, p. 313–338, 2018.
- NECCHI, O. JR.; GARCIA, F.O. A. S.; PAIANO, M. O. Revision of *Batrachospermum* sections *Acarposporophytum* and *Aristata* (Batrachospermales, Rhodophyta) with the establishment of the new genera *Acarposporophycos* and *Visia*. **Phytotaxa**, v. 395, p. 051-065, 2019a.
- NECCHI, O. JR.; GARCIA FO., A. S.; PAIANO, M. O.; VIS, M. L. Revision of *Batrachospermum* section *Macrospora* (Batrachospermales, Rhodophyta) with the establishment of the new genus *Montagnia*. **Phycologia**, v. 58, p. 582–91, 2019b.
- NORTON, T. A.; MELKONIAN, M.; ANDERSEN, R. A. Algal biodiversity. **Phycologia**, v. 35, p. 308-326, 1996.
- PAIANO, M. O.; NECCHI, O. JR. Phylogeography of the freshwater red alga *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Brazil. **Phycological Research**, v. 61, p. 249-255, 2013.
- PAIANO, M. O.; CORTONA, A. D.; COSTA, J. F.; LIU, S. L.; VERBRUGGEN, H.; CLERCK, O. D. NECCHI, O. Jr. Organization of plastid genomes in the freshwater red algal order Batrachospermales (Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 54, p. 25-33, 2018.

- PASCOALOTO, D.; NECCHI, O. JR. Seasonal variation of *Sirodotia delicatula* Skuja (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in a small stream in São Paulo State, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 50, p. 37-44, 1990.
- PUESCHEL, C. M.; COLE, K. M. Rhodophycean pit plugs: an ultrastructural survey with taxonomic implications. **American Journal of Botany**, v. 69, p. 703–20, 1982.
- QIU, H.; PRICE, D.C.; YANG, E.C.; YOON, H.S.; BHATTACHARYA, D. Evidence of ancient genome reduction in red algae (Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 51, p. 624-36, 2015.
- RODRIGUEZ-EZPELETA, N.; BRINKMANN, H.; BUREY, S. C.; ROURE, B.; BURGER, G.; LOFFELHARDT, W.; BOHNERT, H. J.; PHILIPPE, H.; LANG, B. F. Monophyly of primary photosynthetic eukaryotes: green plants, red algae, and glaucophytes. **Current Biology**, v. 15, n. 14, p. 1325-30, 2005.
- ROSSIGNOLO, N. L. & NECCHI, O. Jr. Revision of section *Setacea* of the genus *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) with emphasis on specimens from Brazil. **Journal of Phycology**, v. 55 (4), p. 337-346, 2016.
- ROTH, A.W. *Bemerkungen über das Studium der cryptogamischen Wassergewächse*. pp. [1]-109, [+1 Druckfehler]. Hannover: bei den Gebrüdern Hahn. 1797.
- SALOMAKI, E., KWANDRANS, J., ELORANTA, P., VIS, M. Molecular and morphological evidence for *Sheathia* gen. nov. (Batrachospermales, Rhodophyta) and three new species. **Journal of Phycology**, v. 50 (3), p. 526-542, 2014.
- SAUNDERS, G. W. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future application. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, B360, p. 1879–1888, 2005.
- SAUNDERS, G. W.; HOMMERSAND, M. H. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 10, p. 1494-507, 2004.
- SAUNDERS, G.W. & NECCHI, O., Jr. Nuclear rDNA sequences from *Ballia prieurii* support recognition of *Balliopsis* gen. nov. in the Batrachospermales (Florideophyceae, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 41, p. 61-67, 2002.
- SCHNEIDER, C.W. & WYNNE, M.J. A synoptic review of the classification of red algal genera a half a century after Kylin's "*Die Gattungen der Rhodophyceen*". **Botanica Marina**, v. 50, p. 197-249, 2007.
- SCOTT, J.; YANG, E.C.; WEST, J.A.; YOKOYAMA, A.; KIM, H.J.; SUSAN, L. DE GOËR; O'KELLY, C.J.; ORLOVA, E.; KIM, S.Y.; PARK, J.K.; YOON, H.S. On the genus *Rhodella*, the emended orders Dixoniellales and Rhodellales with a new order Glaucosphaerales (Rhodellophyceae, Rhodophyta). **Algae**, v. 26, p. 277-288. 2011.
- SHEATH, R. G. **The biology of freshwater red algae**. In *Progress in Phycological Research*. Biopress, Bristol, 1984.
- SIRODOT, S. Nouvelle classification des algues d'eau douce du genre *Batrachospermum*: développement; générations alternates. **Comptes-rendus**

hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences, v. 76, p. 1216-1120, 1873.

SKUJA, H. Untersuchungen über die Rhodophyceen des Süßwassers. **Archiv für Protistenkunde**, v. 80, p. 357-366, 1933.

SKUJA, H. Untersuchungen über die Rhodophyceen des Süßwassers. **Beihefte zum Botanische Centralblatt**, v. 52, p. 173-192, 1934.

VIS, M.L. & SHEATH, R.G. Systematics of the freshwater red algal family Lemnaceae in North America. **Phycologia**, v. 31, p. 164-179, 1992.

VIS, M.L. & SHEATH, R.G. A molecular investigation of the systematic relationship of *Sirodotia* species (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America. **Phycologia**, v. 38, p. 261-266, 1999.

VIS, M.L.; HARPER, J.T. & SAUNDERS, G.W. Large subunit rDNA and rbcL gene sequence data place *Petrohia bernabei* gen. et sp. nov. in the Batrachospermales (Rhodophyta), but do not provide further resolution among taxa in this order. **Phycological Research**, v. 55, p. 103-112, 2007.

VIS, M.L.; LEE, J.; ELORANTA, P.; CHAPUIS, I.S.; LAM, D.W. & NECCHI, O. JR. *Paludicola* gen. nov. and revision of the species formerly in *Batrachospermum* section *Turfosa* (Batrachospermales, Rhodophyta). **Journal of Phycology**, p. 1-18, 2020.

WYNNE, M.J. *Torularia* Bonnemaison, 1828, a generic name to be reinstated for *Atrophycus* Necchi & Rossignolo, 2017. **Notulae Algarum**, v. 89, p. 1-4, no figs, 2019.

YANG, E.C.; SCOTT, J.; WEST, J.A.; ORLOVA, E.; GAUTHIER, D.; KÜPPER, F.C.; YOON H.S.; KARSTEN, U. New taxa of the Porphyridiophyceae (Rhodophyta): *Timspurckia oligopyrenoides* gen. et sp. nov. and *Erythrolobus madagascarensis* sp. nov. **Phycologia**, v. 49, p. 604-616, 2010.

YOON, H. S.; HACKETT, J. D.; CINIGLIA, C.; PINTO, G.; BHATTACHARYA, D. A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, p. 809-818, 2004.

YOON, H. S., MÜLLER, K. M., SHEATH, R. G., OTT, F. D., BHATTACHARYA, D. Defining the Major Lineages of Red Algae (Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 42, p. 482-492, 2006.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmaram o gênero *Sirodotia* como um grupo monofilético com alto suporte dentro da ordem Batrachospermales, conforme reportado em estudos filogenéticos anteriores (VIS *et al.*, 1998; VIS & SHEATH, 1999; NECCHI *et al.*, 2007; ENTWISLE *et al.*, 2009; PAIANO & NECCHI, 2013). Este resultado corrobora a primeira hipótese de que *Sirodotia* consiste em um grupo monofilético dentro da ordem Batrachospermales e que deve ser mantido como gênero.

Com relação à diversidade de espécies, dos 23 nomes de espécies listadas no gênero antes deste estudo (Ott, 2009; Guiry & Guiry, 2020) (Tabela 4), três espécies aceitas taxonomicamente não puderam ser reavaliadas (*S. cirrhosa*, *S. gardneri* e *S. huangshanensis*), pois os espécimes tipo não estavam disponíveis para análise e os caracteres utilizados não foram considerados taxonomicamente informativos. Quatro espécies (*S. iyengarii*, *S. polygama*, *S. angolensis* e *S. nigrescens*) foram removidas de *Sirodotia* anteriormente ou neste estudo por apresentarem características de outros gêneros de Batrachospermales. Quatro espécies foram sinonimizadas neste trabalho, três delas (*S. segawae*, *S. sinica* e *S. yutakae*) com *S. suecica* e *S. ateleia* foi sinonimizada com *S. delicatula*. Quatro espécies (*S. acuminata*, *S. fennica*, *S. goebelii* e *S. tenuissima*) já haviam sido sinonimizadas anteriormente com *S. suecica*. Outros três nomes (*S. ambigua*, *S. loefgrenii* e *S. moniliformis*) não foram considerados, pois não foram efetivamente publicados (OTT, 2009). Nesta revisão, reconhecemos quatro espécies já descritas (*S. delicatula*, *S. huillensis*, *S. suecica* e *S. kenneydyi*) com base nos dados moleculares, morfológicos e distribuição geográfica. Cinco espécies novas de *Sirodotia* foram propostas neste estudo: *S. amazonica*, *S. aquiloamericana*, *S. assamica*, *S. cryptica* e *S. delicatuliformis*. Portanto, nove espécies foram reconhecidas e mostraram-se nitidamente separadas por evidências moleculares com clados ou grupos bem definidos nas análises moleculares, caracteres morfológicos distintivos e padrão evidente de distribuição geográfica.

Tabela 4. Relação das espécies *Sirodotia* anteriormente consideradas taxonomicamente aceitas e as reconhecidas neste estudo. Os nomes em negrito indicam as nove espécies reconhecidas neste estudo.

Espécies anteriormente aceitas	Espécies reconhecidas neste estudo
<i>S. acuminata</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
	<i>S. amazonica</i> (espécie nova)
	<i>S. aquiloamericana</i> (espécie nova)
<i>S. assamica</i>	<i>S. assamica</i>
<i>S. ateleia</i>	Sinonimizada com <i>S. delicatula</i>
<i>S. cirrhosa</i>	Duvidosa
	<i>S. cryptica</i> (espécie nova)
<i>S. delicatula</i>	<i>S. delicatula</i>
	<i>S. delicatuliformis</i> (espécie nova)
<i>S. fennica</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
<i>S. gardneri</i>	Duvidosa
<i>S. goebelii</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
<i>S. huangshanensis</i>	Duvidosa
<i>S. huillensis</i>	<i>S. huillensis</i>
<i>S. kennedyi</i>	<i>S. kennedyi</i>
<i>S. segawae</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
<i>S. sinica</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
<i>S. suecica</i>	<i>S. suecica</i>
<i>S. tenuissima</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>
<i>S. yutakae</i>	Sinonimizada com <i>S. suecica</i>

Fonte: Produção do próprio autor.

A descoberta de espécies novas dentro deste grupo confirma a segunda hipótese deste trabalho, visto que foram reconhecidas a existência de três espécies crípticas do Brasil (*S. amazonica*, *S. cryptica* e *S. delicatuliformis*) e uma espécie nova (*S. aquiloamericana*) na América do Norte, descrita anteriormente como *S. huillensis*, a qual apresentou valores de divergência altos (2,7-2,8% para *rbcL* e 6,8% para COI-5P), com relação ao espécime de *S. huillensis* da África, o suficiente para distingui-la como uma nova espécie.

Os caracteres morfológicos diagnósticos utilizados para distinguir o gênero (base carpogonial assimétrica e carposporófito difuso composto de filamentos prostrados produzindo ramos eretos determinados com carposporângios) foram confirmados como bons critérios. Alguns caracteres morfológicos anteriormente usados para distinguir as espécies do gênero (posição do carpogônio que produz os filamentos gonimoblásticos e dimensões dos carposporângios), foram corroborados pelos dados moleculares. Por outro lado, alguns caracteres morfológicos utilizados anteriormente

para distinguir espécies do gênero (espermatângios em ramos especializados, origem do ramo carpogonial, o comprimento do carpogônio, carpogônio curvado ou deflexo, presença de monosporângios nos fascículos secundários e sistema de cruzamento) foram aqui considerados possivelmente mal interpretados ou taxonomicamente não informativos e/ou apresentaram altas variações e sobreposições entre as espécies do gênero. Assim, os seguintes caracteres morfológicos foram considerados diagnósticos: número de células dos fascículos primários, arranjo dos espermatângios, posição do carpogônio que produz os filamentos gonimoblásticos e dimensões dos carposporângios. Considerando que alguns caracteres foram corroborados, mas outros foram considerados sem valor taxonômico ou mal interpretados, a terceira hipótese foi confirmada parcialmente.

Além dos dados moleculares e caracteres morfológicos, algumas espécies de *Sirodotia* apresentaram nítida repartição geográfica, que serviu como critério adicional para reconhecimento dessas espécies: *S. delicatuliformis* ocorrência no Brasil e Costa Rica, *S. amazonica* (regiões centro-oeste e norte do Brasil) e *S. cryptica* (centro-oeste do Brasil), *S. assamica* do nordeste da Índia, *S. aquiloamericana* do sul da América do Norte, *S. huillensis* do sul e sudeste da África, *S. kennedyi* do centro-sul da África. Estes dados evidenciaram a importância do padrão biogeográfico das espécies e confirmaram nossa quarta hipótese.

Encontramos níveis adequados de divergência entre sequências para separação dos grupos, com altos valores entre os grupos e mais baixos dentro dos grupos: 1,6-7% para *rbcL* e 4,2-10,5% para COI-5P, e 0-2,4% para *rbcL* e 0-3,8% para COI-5P, respectivamente. Esses valores encontram-se dentro dos limites de variação intra- e interespecífica reportados para espécies de outros gêneros da ordem Batrachospermales. O marcador LSU “barcode” não demonstrou ser um marcador apropriado por ser menos variável e, portanto, com menor poder de resolução para distinguir espécies, conforme indicado pelos menores valores de divergência entre os grupos formados e suporte relativamente mais baixo dos grupos nas árvores. Entretanto, ele tem sido usado como um bom marcador para inferir filogenias ou identificação de espécies em análises combinadas com outros marcadores, especialmente *rbcL* e UPA (Sherwood et. al., 2010). Alguns dados de sequências completas de LSU foram utilizados com sucesso em vários níveis taxonômicos incluindo circunscrição de gêneros e espécies para estabelecer novas ordens de algas vermelhas (por exemplo Harper & Saunders 2001; Huisman et al., 2004; Tronchin et

al., 2004). No trabalho de Harper & Saunders (2001), os dados para o marcador LSU para seis ordens de Florideophyceae, apresentou mesma topologia e maior valor de bootstrap quando comparado com o SSU. No entanto, para sequências de algas vermelhas do grupo de Florideophyceae no trabalho de Sherwood *et al.* (2010), apesar do marcador LSU ser bem conservado, a análise concatenada de sequências de LSU com UPA e COI-5P gerou árvore de NJ com maior suporte nos níveis família e ordem. Dessa forma, o uso do marcador LSU neste trabalho serviu mais especificamente para compor a análise concatenada com os outros dois marcadores permitindo maior suporte para os clados terminais nas análises.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, D. C.; NECCHI, O. Jr. Systematics of the section *Virescentia* of the genus *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Brazil. **Phycologia**, v.53, n. 5, 2014.
- ENTWISLE, T. J.; VIS, M. L.; CHIASSON, W. B.; NECCHI, O. J.; SHERWOOD, A. R. Systematics of the Batrachospermales (Rhodophyta) - a synthesis. **Journal of Phycology**, v. 45, p. 704-715, 2009.
- GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from: <http://www.algaebase.org> (accessed 18 July 2020).
- HANYUDA, T.; SUZAWA, Y.; SUZAWA, T.; ARAI, S.; SATO, H.; UEDA, K. Biogeography and taxonomy of *Batrachospermum helminthosum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Japan inferred from *rbcl* gene sequences. **Journal of Phycology**, v. 40, p. 581–8, 2004.
- HARPER, J. T. & SAUNDERS, G. W. The application of sequences of the ribosomal cistron to the systematics and classification of the florideophyte red algae (Florideophyceae, Rhodophyta). **Cahiers Biologie Marine**, v. 42, p. 25 – 28, 2001.
- HOUSE, D. L.; SHERWOOD, A. R.; VIS, M. L. Comparison of three organelle markers for phylogeographic inference in *Batrachospermum helminthosum* (Batrachospermales, Rhodophyta) from North America. **Phycological Research**, v. 56, n. 2, p. 69-75, 2008.
- HOUSE, D. L.; VANDENBROEK, A. M.; VIS, M. L. Intraspecific genetic variation of *Batrachospermum gelatinosum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in eastern North America. **Phycologia**, v. 49, n. 5, p. 501-507, 2010.
- HUISMAN, J. M.; ABBOTT, L. A. & SHERWOOD, A. R. Large subunit rDNA gene sequences and reproductive morphology reveal *Stenopeltis* to be a member of the Liagoraceae (Nemaliales, Rhodophyta), with a description of *Akalaphycus* gen. nov. **European Journal of Phycology**, v. 9, p. 257-272, 2004.
- LEONARDO DA VINCI. Pensador: colecionador e compartilhe frases, poemas, mensagens e textos. Disponível em: https://www.pensador.com/autor/leonardo_da_vinci/. Acesso em: 20.03.2020.
- NECCHI, O. JR., VIS, M.L. & OLIVEIRA, M.C. Phylogenetic relationship of *Sirodotia* species (Batrachospermales, Rhodophyta) in North and South America. **Cryptogamie, Algologie**, v. 27, p. 117-127, 2007.
- OTT, F. D. *Handbook of the taxonomic names associated with the non-marine Rhodophycophyta*. J. Cramer, Stuttgart, 969 pp, 2009.
- PAIANO, M. O.; NECCHI, O. JR. Phylogeography of the freshwater red alga *Sirodotia* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Brazil. **Phycological Research**, v. 61, p. 249-255, 2013.

- ROSSIGNOLO, N. L. & NECCHI, O. Jr. Revision of section *Setacea* of the genus *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) with emphasis on specimens from Brazil. **Journal of Phycology**, v. 55 (4), p. 337-346, 2016.
- SHERWOOD, A.R.; SAUVAGE, T.; KURIHARA, A.; CONKLIN, K.Y.; PRESTING G.G. A comparative analysis of COI, LSU and UPA marker data for the Hawaiian florideophyte Rhodophyta: implications for DNA barcoding of red algae. **Cryptogamie Algologie**, v. 31, p. 451-465, 2010.
- TRONCHIN, E. M.; DE CLERCK, O.; FRESHWATER, D. W.; BOLTON, J. J. & ANDERSON, R. J. *Ptilophora Ieliaertii* and *Ptilophora coppejansii*, two new species of Gelidiales (Rhodophyta) from South Africa. **European Journal of Phycology**, v. 39, p. 395-410, 2004.
- VIS, M. L.; CAMERON HODGE, J.; NECCHI, O. J. Phylogeography of *Batrachospermum macrosporum* (Batrachospermales, Rhodophyta) from North and South America. **Journal of Phycology**, v. 44, n. 4, p. 882-888, 2008.
- VIS, M.L. & ENTWISLE, T.J. Insights into the phylogeny of the Batrachospermales (Rhodophyta) from *rbcL* sequence data of Australian taxa. **J. Phycol.** 36: 1175-1182, 2000.
- VIS, M. L.; FENG, J.; CHIASSON, W. B.; XIE, S.-L.; STANCHEVA, R.; ENTWISLE, T. J.; CHOU, J.-Y.; WANG, W.-L. Investigation of the molecular and morphological variability in *Batrachospermum arcuatum* (Batrachospermales, Rhodophyta) from geographically distant locations. **Phycologia**, v. 49, n. 6, p. 545-553, 2010.
- VIS, M. L.; MILLER, E. J.; HALL, M. M. Biogeographical analyses of *Batrachospermum helminthosum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America using molecular and morphological data. **Phycologia**, p. 40: 2–9, 2001.
- VIS, M. L.; NECCHI, O. J.; CHIASSON, W. B.; ENTWISLE, T. J. Molecular phylogeny of the genus *Kumanoa* (Batrachospermales, Rhodophyta). **J. Phycol.**, v. 48, p. 750-758, 2012.
- VIS, M.L., SAUNDERS, G.W., SHEATH, R.G., DUNSE, K.; ENTWISLE, T.J. Phylogeny of the Batrachospermales (Rhodophyta) inferred from *rbcL* and 18S ribosomal DNA gene sequences. **J. Phycol.** v. 34, p. 341-350, 1998.
- VIS, M.L. & SHEATH, R.G. A molecular investigation of the systematic relationship of *Sirodotia* species (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America. **Phycologia**. v. 38, p. 261-266, 1999.