NADIA MARTINS LEMES DA SILVA

TRENTEPOHLIALES (ULVOPHYCEAE, CHLOROPHYTA) DE BIOMAS BRASILEIROS: FLORA, TAXONOMIA E FILOGENIA

ORIENTADOR: Dr. LUIS HENRIQUE ZANINI BRANCO

Comissão examinadora:

Prof. Dr. LUIS HENRIQUE ZANINI BRANCO - Orientador
Departamento de Zoologia e Botânica / Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto/UNESP

Prof. Dr. CARLOS EDUARDO DE MATTOS BICUDO
Instituto de Botânica/seção de Ecologia/Divisão do Jardim Botânico de São Paulo

Profa. Dra. CELIA LEITE SANT´ANNA
Seção de Ficologia / Instituto de Botânica de São Paulo

Profa. Dra. CARLA FERRAGUT
Instituto de Botânica/Divisão do Jardim Botânico de São Paulo

Profa. Dra. VALÉRIA CASSANO
Departamento de Botânica / Universidade de São Paulo

Os meus sinceros agradecimentos...

Ao Prof. Dr. Luis Henrique Zanini Branco, pelo exemplo de postura científica e por desempenhar, durante todos esses anos, o verdadeiro papel de orientador;

Aos colegas do BETA: Anna Izabel, Auro, Douglas, Haruo, Marcella, Mariéllen, Monica e Náthali, pelas discussões científicas e filosóficas, companheirismo e amizade, que fazem do nosso laboratório um ambiente de união;

Aos colegas: Haruo, Marcella, Mariéllen e Monica, pela ajuda nos trabalhos de campo;

À Dra. Janaína Rigonato, pela contribuição nas análises moleculares;

Ao Dr. Michel Garey Varajão, pela ajuda nas análises ecológicas;

Ao Programa de Pós-Graduação da UNESP/Câmpus de Rio Claro, especialmente aos professores que muito contribuíram com a minha formação;

Ao IBILCE, por ter cedido seu espaço para a realização deste trabalho e por ser um lugar tão especial, onde passei os melhores anos da minha vida, onde fiz minhas grandes amizades e tive contato com os meus eternos mestres;

Ao Prof. Dr. Fabio Rindi e à todos os profissionais e colegas do Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente e da Università Politecnica delle Marche (Ancona, Itália), por terem me recebido tão prontamente e por terem contribuído com este trabalho;

À Serena, por ter sido tão solicita, companheira e acolhedora, durante a minha passagem pela Itália;

Aos colegas de pós-graduação, em especial aqueles residentes em Rio Claro, por me acolherem durante as disciplinas;

Às minhas companheiras de casa: Ana, Miuki e Monica, pelo convivo tão especial e por todo amor e carinho que temos umas com as outras. Vocês são insubstituíveis, eu as amo;

Aos meus grandes amigos: Bruna, Gabriel, Gorgon, Miuki, Monica e Nego, por sempre estarem presentes de uma forma tão verdadeira e acolhedora, em minha vida;

À Ana, minha irmã, por ser a pessoa que sempre esteve e que sempre estará ao meu lado. Por ser tão leal, simples e sensível, além de ser uma ótima companhia para uma cerveja e conversas cult;

Aos meus avós, Gecila e Joaquim, por serem meus segundos pais;

Ao meu amado pai, Antonio, por ser a pessoa que mais confia em mim, por seu amor incondicional e por sempre me dizer, quando mais preciso: "Vai dar tudo certo, minha filha.";

À minha amada mãe, Audenice, pelo apoio, confiança, compreensão e amor, além de ser o melhor exemplo de força, humildade, bondade e respeito por todos os seres;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.

"And in the end, the love you take is equal to the love you make."

(Lennon & McCartney, 1969)

Sumário

Cap. I: Embasamento teórico e metodológico geral 14

1. Resumo 8

2. Introdução 9

4. Referências bibliográficas 26

Cap. II: Flora de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) filamentosas de biomas brasileiros 47

1. Resumo 48

2. Introdução 49

3. Material e métodos 51

4. Resultados 52

5. Discussão 80

6. Referências bibliográficas 81

Cap. III: Flora de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) pseudoparenquimatosas de biomas brasileiros 72

1. Resumo 87

2. Introdução 88

3. Material & métodos 90

4. Resultados 91

5. Discussão 106

6. Refêrencias bibliográficas 108

Cap. IV: Padrões de distribuição da riqueza de Trentepohliales em biomas brasileiros 112

1. Resumo 113

2. Introdução 114

4. Resultados 118

6. Referências bibliográficas 133

Cap. V: Cultivos artificiais de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) de biomas brasileiros 138

1. Resumo 139

2. Introdução 140

3. Material e métodos 141

4. Resultados e discussão 143

5. Referências bibliográficas 153

Cap. VI: Estudos moleculares e filogenia de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) de biomas brasileiros 156
1. Resumo 157
2. Introdução 158
3. Material e métodos 160
4. Resultados 166
5. Discussão 173
5. Referências bibliográficas 177
Conclusões gerais 186

Capítulo I

Embasamento teórico e metodológico geral

1. Resumo

Os membros da ordem Trentepohliales são estritamente terrestres, crescendo em solo, rochas, troncos, folhas, frutos, folhas e vários tipos de construções artificiais. A ordem consiste de uma única família, Trentepohliaceae, e o número de gêneros é ainda conflitante entre os autores, alguns considerando a família com cinco gêneros (*Trentepohlia*, *Printzina*, *Phycopeltis*, *Cephaleuros* e *Stomatochroon*) e outros com seis (incluindo *Physolinum*, além dos gêneros citados). Esse grupo é um dos mais abundantes em ambientes terrestres e está entre os menos conhecidos e estudados, principalmente em regiões tropicais. Devido à sua morfologia relativamente simples, as Trentepohliales formam um grupo taxonomicamente difícil e sua grande plasticidade morfológica está relacionada a fatores ambientais, tornando confusa a distinção de espécies e gêneros. O presente estudo visou contribuir com o conhecimento taxonômico do grupo, por meio do levantamento florístico em cinco biomas brasileiros: Cerrado (Parque Nacional da Serra da Canastra e Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros), Floresta Ombrófila Densa (Parque Estadual da Serra do Mar/Núcleo Picinguaba e Parque Nacional de Itatiaia), Floresta Ombrófila Mista (Região de Campos do Jordão) e Restinga (Parque Estadual da Serra do Mar/Núcleo Picinguaba), além de fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual presentes na região noroeste do estado de São Paulo. Adicionalmente, objetivou-se a ampliação geográfica do registro de ocorrência das espécies já registradas em território nacional e descrição de aspectos ecológicos do *habitat* onde se desenvolvem. O material coletado foi utilizado para detalhamento da taxonomia do grupo, com a aplicação de estudos moleculares, além dos morfológicos clássicos. Os crescimentos de Trentepohliales foram procurados visualmente ao longo da maior área possível no interior de cada bioma considerando-se a viabilidade de execução do trabalho e coletados qualitativamente em troncos, folhas e rochas.

2. Introdução

Trentepohliales é uma ordem de algas verdes, que compreende organismos estritamente terrestres. São amplamente distribuídos em regiões úmidas e pesquisas recentes confirmam a alta diversidade desse grupo em regiões tropicais, sendo assim, o seu centro de dispersão (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

As algas verdes são eucariotos fotossintetizantes, que possuem plastídios envoltos por uma membrana dupla, clorofilas *a* e *b*, pigmentos acessórios encontrados em embriófitas (betacarotenos e xantofilas) e uma estrutura única estrelada ligando nove pares de microtúbulos na base flagelar (MATTOX & STEWART, 1984; SLUIMAN, 1989; BREMER, 2008; KENRICK & CRANE,1997). Outras características das algas verdes incluem a parede celular, que geralmente é composta de celulose e o amido estocado dentro do plastídio (GRAHAM & WILCOX, 2000). Segundo Lewis & McCourt (2004), as algas verdes evoluíram em três linhagens: 1) Charophyta, que compreende algumas das mais populares algas verdes, como *Spirogyra* e *Chara*; 2) Chlorophyta, que inclui a maioria das algas chamadas de verdes e 3) "Prasinofitas", que consistem em um grupo de organismos plesiomórficos, os quais possuem afinidade incerta.

A posição de Trentepohliales dentro do grupo de algas verdes é historicamente problemática (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003), já que as características de algumas espécies, como estruturas estratificadas no aparato flagelar e citocinese tipo fragmoplasto, sugerem afinidade filogenética com Charophyceae (Charophyta). Por outro lado, outras características das Trentepohliales, como componentes do aparato flagelar no sentido anti-horário, evidenciam afinidade com Ulvophyceae (Chlorophyta).

Análises filogenéticas recentes, principalmente aquelas realizadas por López-Bautista & Chapman (2003), usando sequências do gene 18S rDNA, comprovaram a posição de Trentepohliales dentro de Ulvophyceae (Chlorophyta) (Figura 1). Esse dado indica que as Trentepohliales, provavelmente, divergiram de um ancestral marinho filamentoso e macroscópico, da classe Ulvophyceae, enquanto a

característica "citocinese tipo fragmoplasto" parece estar relacionada ao *habitat* terrestre (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003).

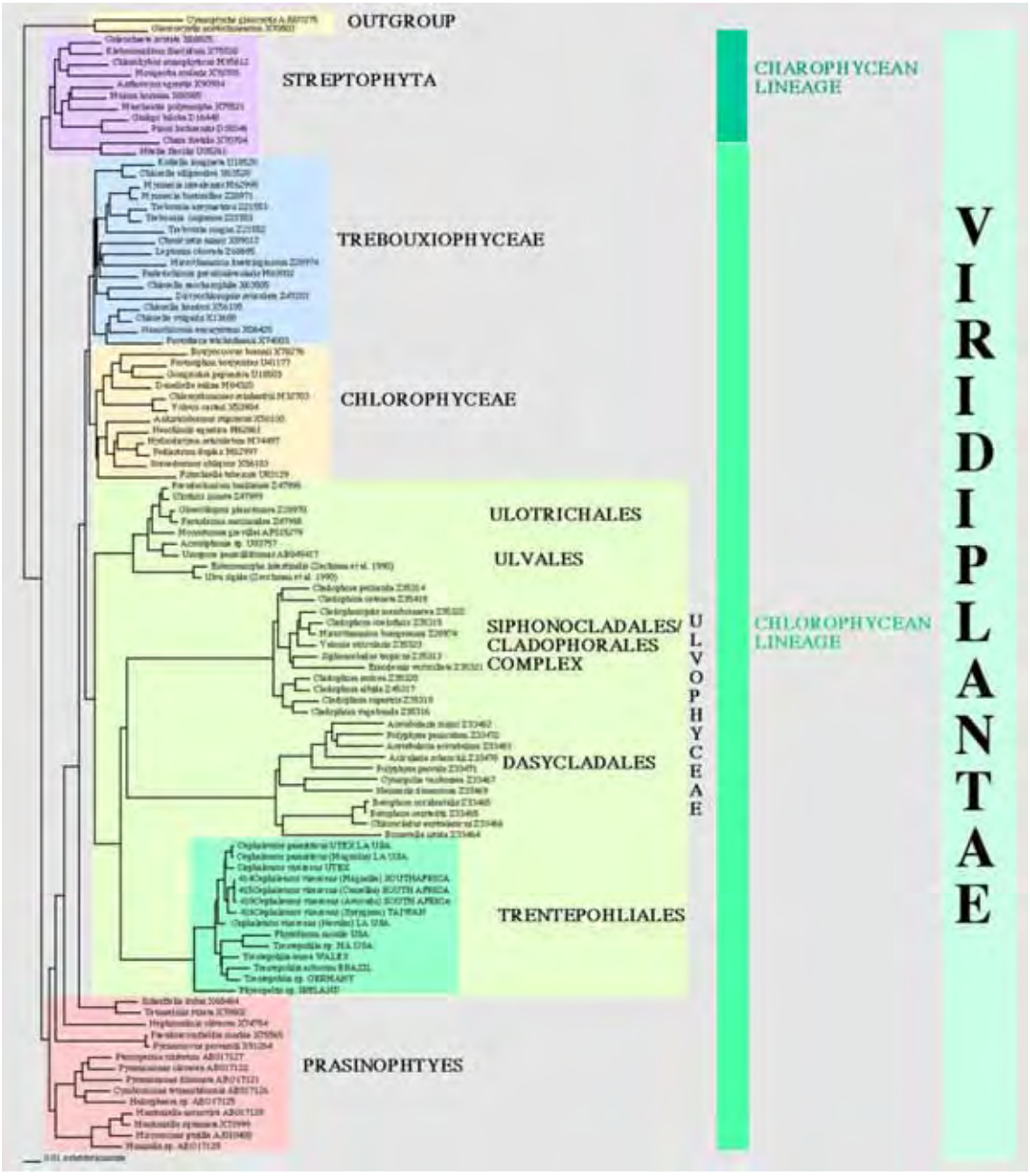


Figura 1. Filogenia das "algas verdes", baseada no 18S rDNA (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003).

Todas as Trentepohliales são subaéreas e a presença de substâncias semelhantes à esporopolenina na parede das células (GOOD & CHAPMAN, 1978), assim como um padrão especial de carboidratos e álcoois (FEIGE & KREMER, 1980;

PATTERSON & VAN VALKENBURG, 1991) são provavelmente as características adaptativas contra a dessecação no ambiente terrestre (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002).

A maioria das formas possui um colorido brilhante, variando de amarelo a vermelho (Figuras 2 e 3), devido à astaxina (hematocromo), um pigmento carotenoide que recobre a clorofila (THOMPSON & WUJEK, 1997). Os carotenoides são fisiologicamente importantes, principalmente em organismos que vivem em ambientes com altos níveis de radiação, pois desempenham papel fotoprotetor (PATTANAIK et al., 2007).

Os organismos da ordem possuem células uni ou multinucleadas, os cloroplastos muitas vezes são parietais, podendo também ser discoides, em forma de fita ou reticulados. Os indivíduos são geralmente filamentosos, unisseriados e ramificados, ou são discos monostromáticos e pseudoparenquimatosos prostrados. Outras formas são muito reduzidas e constituídas somente por um pequeno filamento vegetativo com poucas células (CHAPMAN, 1984; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002).

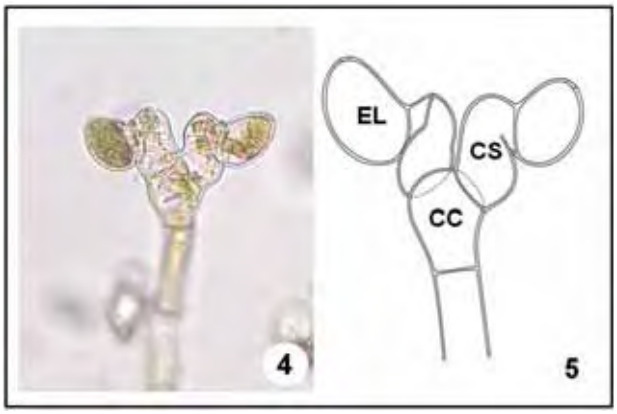
Figuras 2-3. 2. Crescimento de *Trentepohlia* sp. em poste de madeira. 3. Crescimento de *Trentepohlia arborum* sobre solo.

Essa ordem distingue-se de todas as outras algas verdes por uma combinação única de características, que inclui a presença de β-caroteno e hematocromo, ausência de pirenoides no cloroplasto, aparato flagelar diferenciado, parede transversal da célula com plasmodesmos e ocorrência de esporângio lateral, que é uma estrutura de reprodução altamente diferenciada (RINDI et al., 2006).

O aparato flagelar em Trentepohliales mostra características únicas e distintas. As duas estruturas colunares do aparato assemelham-se e podem ser homólogas a estruturas estratificadas (MLS - *multilayered structures*), típicas de células flageladas unilaterais, como as encontradas em Charales. Outra característica distinta é o arranjo das quatro raízes microtubulares, que em *Trentepohlia* apresenta-se como 6-4-6-4 e é variável em outros gêneros de Trentepohliales, enquanto nas outras algas verdes segue o padrão x-2-x-2 (VAN DEN HOEK et al., 1995)

O esporângio lateral encontra-se em um ramo profundamente modificado, composto por uma célula de suporte, encolhida quando flácida e distendida quando túrgida, seguida por um esporângio. A parede entre a célula de suporte e o esporângio separa-se na maturidade, mas permanece um contato através de um pequeno espessamento. Essa conexão eventualmente enfraquece e, então, o esporângio desprende-se e pode ser disseminado pelo vento, chuva ou mesmo por insetos (THOMPSON & WUJEK, 1997) (Figuras 4 e 5).

A reprodução e o histórico de vida são aspectos ainda pouco estudados para os organismos dessa ordem. Thompson & Wujek (1997) relataram, para *Cephaleuros* e *Stomatochroon,* um ciclo onde os isogametas biflagelados são produzidos dentro de um gametângio séssil, sendo que a fertilização pode ocorrer dentro ou fora do gametângio. O zigoto germina e produz um esporófito anão que desenvolve pequenos zoosporângios (microzoosporângios ou meiozooporângios), que voltam a produzir quatro ou oito zoósporos quadriflagelados (microzoósporos ou meiozoósporos). A meiose provavelmente ocorre no zoosporângio anão (Figura 6).



Figuras 4-5. 4. Esporangióforo com esporângios laterais. 5. Esquema do esporangióforo. EL = esporângio lateral, CS = célula de suporte, CC = célula cabeça.

Já o ciclo de vida de *Trentepohlia* e *Phycopeltis* foi descrito com alternância isomórfica de gerações (CHAPMAN, 1984; THOMPSON & WUJEK 1997), sendo que o gametófito haploide suporta o gametângio (em certos casos também o zoosporângio) e estes produzem os gametas biflagelados. O zigoto desenvolve-se, originando somente meiozoosporângios e zoósporos, que germinam para formar gametófitos haploides (Figura 7). O meiozoosporângio é a provável sede da meiose (THOMPSON & WUJEK, 1997). No entanto, Rindi & Guiry (2002) não observaram reprodução sexual em populações de *Trentepohlia* da Irlanda, mas sim, células biflageladas atuando com esporos assexuais e se reproduzindo na mesma fase morfológica.

Essa ordem compreende uma família, Trentepohliaceae, que contém, de acordo com critérios morfológicos, cinco (*Cephaleuros* Kunze, *Phycopeltis* Millardet, *Stomatochroon* Palm, *Trentepohlia* Martius e *Printzina* Thompson & Wujek) ou seis gêneros (incluindo *Physolinum*), dependendo da classificação adotada. Atualmente, são reconhecidas, aproximadamente, 70 espécies pertencentes a essa ordem, no entanto, devido aos conflitos sobre a circunscrição de gêneros, muitas espécies possuem posição taxonômica incerta (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

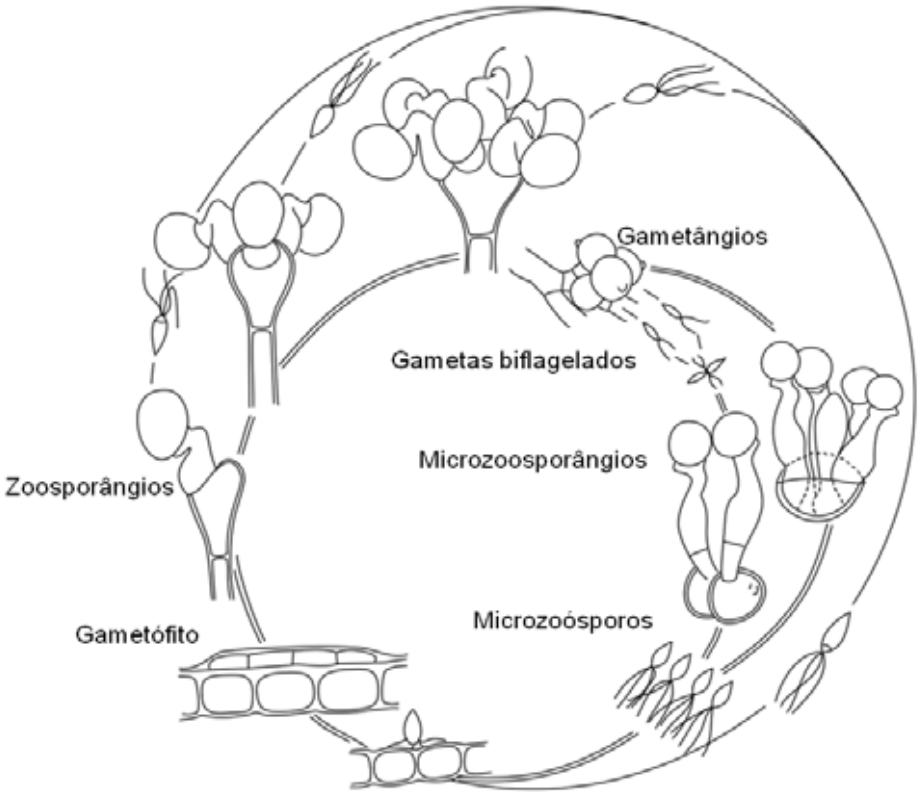


Figura 6. Histórico de vida de *Cephaleuros* (THOMPSON & WUJEK, 1997).

O gênero *Trentepohlia* Martius é o mais comum e o mais rico da família, com aproximadamente 35 espécies (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006). Essas algas crescem em rochas, troncos, madeiras ou substratos artificiais, frequentemente formando massas conspícuas de coloração vermelha, alaranjada ou verde. Consistem de filamentos unisseriados ramificados com esporângios ovoides laterais solitários ou em grupos (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002). Alguns aspectos taxonômicos do grupo ainda permanecem confusos, como por exemplo, a posição de *Trentepohlia monile*, descrita por De Wildeman (1891), com base em material encontrado no Chile. Entretanto, Printz, em 1921, transferiu a espécie para o gênero monoespecífico *Physolinum*, baseado principalmente em características reprodutivas (reprodução por aplanósporos em *Physolinum e* por zoósporos em *Trentepohlia*).

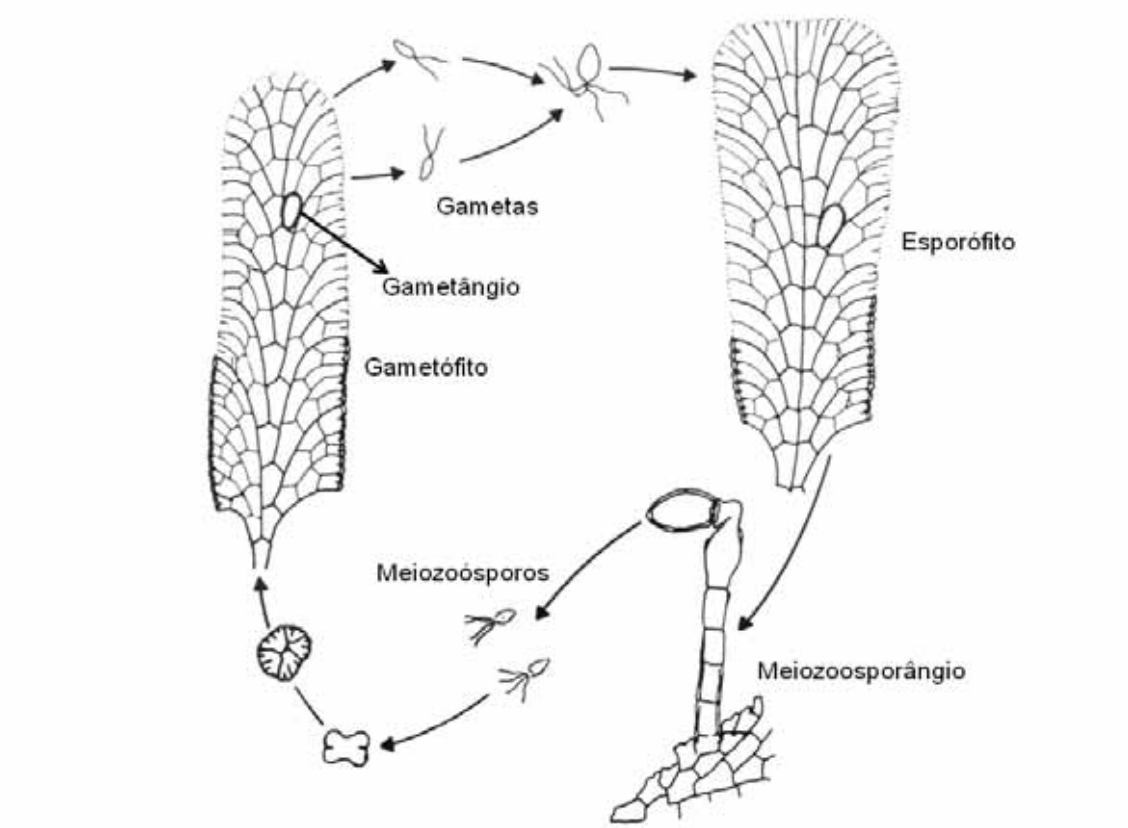


Figura 7. Histórico de vida de *Phycopeltis* (THOMPSON & WUJEK, 1997).

Flint (1959), por sua vez, encontrou zoósporos em *Physolinum monile* e o retornou a espécie ao gênero *Trentepohlia.* Alguns pesquisadores, contudo, ainda adotam a proposta de Printz e continuam considerando *Physolinum* como um gênero bem estabelecido (DAVIS et al., 1989; DAVIS & RANDS, 1993; BICUDO & SANTOS, 2001).

Printzina Thompson & Wujek, 1992, é um gênero de algas inconspícuas, com filamentos unisseriados ramificados, com um sistema prostrado bem desenvolvido, esporângios globulares a reniformes, laterais e solitários e gametângios terminais ou laterais. A separação de *Printzina* e *Trentepohlia* também é duvidosa, pois existem formas intermediárias entre os dois gêneros (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2007) e análises do gene 18S rRNA não suportam tal separação (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006).

Indivíduos de *Phycopeltis* Millardet, 1870, normalmente consistem de sistemas prostrados bem desenvolvidos, que podem ser livres ou coalescidos, formando um talo pseudoparenquimatoso. Na fase reprodutiva, os filamentos suportam esporângios laterais solitários e podem ser sésseis ou estar posicionados nas extremidades dos filamentos eretos. Crescem em folhas (menos frequentemente em caules), em posição supracuticular e nunca parasitam a planta hospedeira (THOMPSON & WUJEK, 1997; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006).

As algas pertencentes à *Cephaleuros* Kunze *ex* Fries, 1832, consistem de filamentos ramificados, livres ou coalescidos para formar discos que crescem abaixo da cutícula e da epiderme de folhas de plantas superiores. Da porção prostrada, nascem ramos, com células cilíndricas estéreis ou férteis. É reportado como um gênero de espécies parasitas (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002).

Por fim, *Stomatochroon* Palm, 1934, cresce como um organismo endofítico na cavidade subestomatal e em espaços intercelulares dos hospedeiros. Os ramos com os esporângios são as únicas partes do talo que emergem da planta hospedeira. É morfologicamente reduzido e o gênero menos conhecido entre todas as Trentepohliales (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006).

Os primeiros estudos taxonômicos sobre os organismos da ordem foram feitos por Karsten (1891), Hariot (1889, 1890, 1893) e De Wildeman (1888a, 1888b, 1888c, 1890, 1891), seguido por Printz (1921, 1927, 1939, 1964), que realizou os trabalhos taxonômicos mais completos sobre o grupo e que são, ainda hoje, base para estudos taxonômicos morfológicos. Posteriormente, Thompson & Wujek (1997) publicaram uma monografia sobre Trentepohliales, abordando aspectos morfológicos, taxonômicos e ecológicos sobre os gêneros *Cephaleuros*, *Phycopeltis* e *Stomatochroon.*

Organismos da ordem Trentepohliales são listados em levantamentos florísticos realizados em várias regiões mundo. Para o continente australiano, os trabalhos existentes sobre esses organismos foram realizados por Cribb (1958a,

1958b, 1963, 1967, 1968, 1970, 1972, 1987, 1989, 1993) e dizem respeito somente ao gênero *Trentepohlia.* Na Europa, esses organismos foram reportados por Rindi & Guiry (2003), em ambientes urbanos na Irlanda, e por Rindi et al. (2003), na França. Rindi et al. (2006) registraram táxons de *Phycopeltis*, *Printzina* e *Trentepohlia* na África. Na Ásia, foram encontradas espécies de *Phycopeltis* por Neustupa (2003, 2005) e espécies de *Trentepohlia* por Islam (1960). Jose & Chowdary (1980) e Panikkar & Sindhu (1993) reportaram espécies de *Trentepohlia* no território indiano. Brooks (2004) registrou espécies de *Cephaleuros*, *Phycopeltis* e *Stomatochroon* nas Ilhas Samoa. Tracanna (1989) encontrou espécies de *Trentepohlia* na Argentina. Rindi et al. (2005) registraram organismos dos gêneros *Trentepohlia* e *Printzina* nas Ilhas Havaianas. Rindi & López-Bautista (2008) encontraram *Phycopeltis*, *Printzina* e *Trentepohlia* na Guiana Francesa.

No Brasil, poucos trabalhos concentraram-se no estudo taxonômico dos organismos da ordem. Akiyama (1971) registrou oito espécies de *Trentepohlia* e uma espécie de *Phycopeltis* para o território brasileiro e Bicudo & Santos (2001) encontraram cinco espécies de *Trentepohlia* no Parque Estadual Fontes do Ipiranga, em São Paulo (SP). O estudo de Lemes-da-Silva et al. (2010), realizado em fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual no noroeste do estado de São Paulo, encontrou cinco espécies de *Trentepohlia* e uma de *Printzina* (primeiro registro do gênero para o Brasil) vivendo sobre troncos de árvores. Até o momento, 12 morfoespécies de Trentepohliales foram registradas para o território brasileiro.

Devido à sua morfologia relativamente simples, as Trentepohliales formam um grupo taxonomicamente complexo. A grande plasticidade morfológica está relacionada a fatores ambientais, tornando difícil e confusa a distinção de espécies e gêneros (HARIOT, 1889; RINDI & GUIRY, 2002; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007). Segundo López-Bautista et al. (2006), a validade de muitas características morfológicas usadas para a separação de espécies e gêneros é duvidosa e, especialmente nos gêneros

Trentepohlia e *Printzina,* muitas características morfométricas mostram consideráveis sobreposições entre diferentes espécies.

Estudos recentes sobre sistemática molecular de espécies da ordem usando 18S rDNA indicam que os critérios morfológicos tradicionalmente usados para separar gêneros e espécies não são corretamente relacionados com os padrões filogenéticos (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006). O estudo realizado por López-Bautista et al. (2006) com representantes dessa ordem de diferentes regiões do mundo mostrou que o gênero *Cephaleuros* forma um clado monofilético bem suportado, enquanto *Trentepohlia* parece ser um clado polifilético e espécies de *Trentepohlia*, *Phycopeltis* e *Printzina* posicionam-se misturadas em diferentes grupos.

Além da ampliação e aprimoramento dos estudos moleculares, um melhor detalhamento da caracterização morfológica e ecológica dos membros da ordem é de fundamental importância. Os estudos tradicionais sobre diversidade, taxonomia e ecologia ainda são a base de informações para o grupo, especialmente para regiões tropicais (RINDI et al., 2006).

3. Objetivos

3.1. Objetivos gerais

Assim, considerando a carência de estudos com os organismos da ordem Trentepohliales em ambientes tropicais, principalmente no Brasil, e sua importância ecológica nos ambientes onde ocorrem, o presente estudo tem como objetivos principais: **1.** realizar o levantamento taxonômico em áreas geográfica e ecologicamente distintas no território nacional e **2.** apresentar informações a respeito da distribuição ecológica desses organismos em diferentes biomas brasileiros. O estudo dos organismos encontrados poderá também contribuir com dados importantes para a elaboração de uma melhor delimitação de espécies do grupo com base na

avaliação crítica dos critérios tradicionalmente empregados, com complementação de informações produzidas pela aplicação de técnicas modernas à taxonomia (estudos moleculares), que deverão ser realizadas nas espécies de interesse.

3.2. Objetivos específicos

O estudo tem como objetivos específicos:

1. Conhecer a flora de Trentepohliales cortícolas e epilíticas em diferentes biomas nacionais.

Hipótese: espera-se encontrar diferentes espécies principalmente pertencentes aos gêneros *Trentepohlia* e *Printzina*, sendo provável o registro de novas ocorrências para o território nacional. A existência de novos táxons (principalmente espécies) para Ciência é uma possibilidade concreta, considerando-se o desconhecimento da flora em regiões tropicais.

2. Pioneiramente, iniciar o levantamento e estudo da flora de Trentepohliales epifílicas e endofílicas no território brasileiro.

Hipótese: espera-se encontrar diferentes espécies principalmente pertencentes aos gêneros *Phycopeltis*, *Cephaleuros* e *Stomatochroon*, sendo certo o registro de novas ocorrências para o território nacional. A existência de novos táxons (principalmente espécies) para Ciência é uma possibilidade concreta, considerando-se o total desconhecimento desta flora no Brasil.

3. Comparar a flora de Trentepohliales de diferentes biomas, relacionando as características ambientais de áreas geográficas e biomas contrastantes.

Hipótese: supõe-se que ambientes com condições ambientais semelhantes, principalmente quanto às condições de irradiância e de umidade atmosférica, abriguem floras similares. Diferenças na composição das vegetações arbóreas e/ou arbustivas entre os biomas estudados podem se refletir na composição das Trentepohliales, considerando-se a possibilidade de especificidade hóspede/hospedeiro.

4. Avaliar diferenças na composição florística da comunidade em uma extensão altitudinal nos biomas Restinga/Mata Atlântica (Picinguaba) e Cerrado (Serra da Canastra).

Hipótese: acredita-se que, com as modificações das condições ambientais e da vegetação provocadas pelas diferenças de altitude nas áreas selecionadas, a composição da flora de Trentepohliales deve se alterar como resposta ao gradiente altitudinal.

5. Avaliar características morfológicas e moleculares de populações encontradas, visando contribuir com o estudo das relações filogenéticas entre representantes da ordem.

Hipótese: a realização de estudos morfológicos detalhados para todas as populações encontradas e a aplicação de técnicas moleculares para espécies/populações selecionadas deverão contribuir para o melhor delineamento das espécies encontradas, bem como com o entendimento da taxonomia do grupo em níveis taxonômicos mais elevados.

4. Material e métodos

Área de estudo

As áreas de estudo incluíram cinco biomas, cerrado, floresta ombrófila densa, floresta ombrófila mista, floresta estacional semidecidual e restinga, distribuídos nas regiões centro-oeste e sudeste do Brasil (Figura 8). As áreas de cerrado estão sendo estudadas nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra) e Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros). Regiões de floresta tropical foram amostradas nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia). Áreas de floresta ombrófila mista, floresta estacional semidecidual e restinga estão sendo estudadas no

estado de São Paulo (região de Campos do Jordão, fragmentos florestais no noroeste paulista e Parque Estadual da Serra do Mar, respectivamente).

Figura 8. Estados brasileiros (cinza) onde estão localizados as áreas amostradas nesse estudo (pontos pretos).

Parque Nacional da Serra da Canastra (20°20'58"S, 46°38'18"W) – PNSC (Figura 9)

O Parque Nacional da Serra da Canastra, situado no estado de Minas Gerais, possui uma área de 200.000 ha. As principais fitofisionomias encontradas são as florestas mesófilas de encosta, capões, cerradão, cerrado, campo cerrado, campo limpo e campo rupestre (IBDF, 1981).

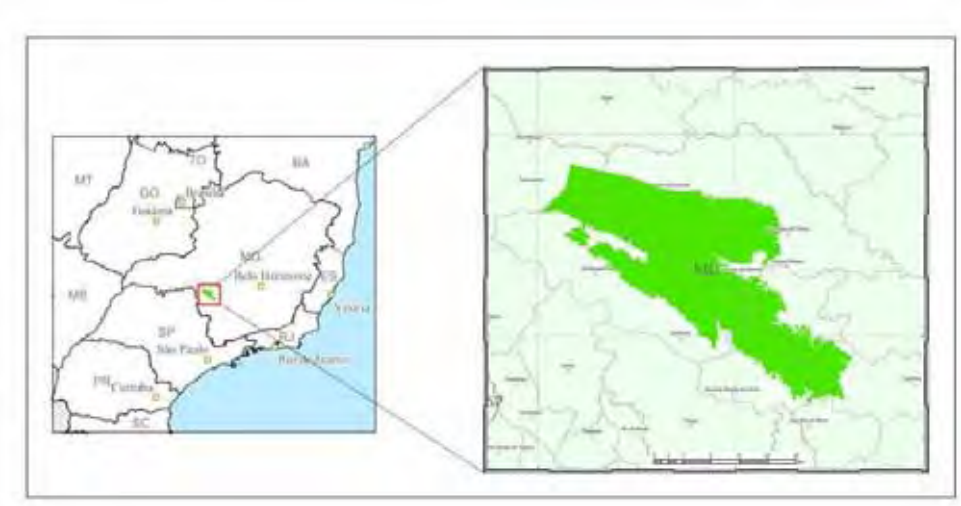


Figura 9. Localização do Parque Nacional da Serra da Canastra (MG). Fonte: Ibama (http://www.ibama.gov.br/siucweb/listaUcCategoria.php?abrev=PARNA)

Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (14º03’20"S, 47º30’51"W) - PNCV (Figura 10)

O Parque Nacional está inserido na bacia hidrográfica do Rio Tocantins, possui uma área de 647,9571 km^2 (aproximadamente 60.000 ha) e está localizado no nordeste do estado de Goiás (MMA, 2010). A área do parque está inserida dentro do polígono de extrema importância biológica do bioma Cerrado e do corredor ecológico Paranã-Pirineus, sendo considerada como área núcleo da Reserva da Biosfera do Cerrado.

Figura 10. Localização do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (GO). Fonte: Ibama (http://www.ibama.gov.br/siucweb/listaUcCategoria.php?abrev=PARNA).

Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba e áreas adjacentes (23°22'16"S, 45°0'10"W) – PESM (Figura 11)

O Núcleo Picinguaba, com uma área de aproximadamente 8.000 ha, está localizado ao norte do estado de São Paulo e é um dos oito núcleos administrativos que formam o Parque Estadual da Serra do Mar, sendo o único que atinge a orla marítima (MACHADO et al., 2007). A vegetação da área é considerada como Floresta Ombrófila Densa (VELOSO et al., 1991), o que lhe confere a particularidade de englobar ecossistemas associados à Mata Atlântica como as planícies de restinga e manguezais.

Parque Nacional do Itatiaia (22°20'S, 44°35'W) – PNI (Figura 12)

O parque está localizado no sudoeste do estado do Rio de Janeiro, com altitudes entre 700 e 2.787m e possui área 30.000ha. A região do Parque abrange a parte mais elevada da Serra da Mantiqueira e sua área de floresta é um dos únicos remanescentes na paisagem do vale do rio Paraíba. As variações altitudinais permitem que sejam aqui encontradas, além da típica Floresta Ombrófila Densa, a Floresta Alto Montana e campos de altitude (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2008).

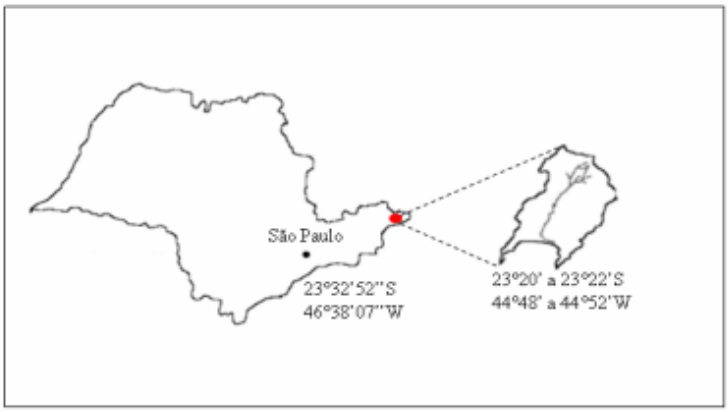


Figura 11. Localização do Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba e áreas adjacentes (SP). Adaptado de MORAES et al. (1999).

Região de Campos do Jordão e áreas adjacentes – RCJ (Figura 13)

A Região de Campos do Jordão, situado no estado de São Paulo, possui uma área de 8.385,89 ha e resguarda os últimos remanescentes das florestas de araucária do estado. Apresenta uma grande diversidade vegetal, com predominância de florestas de araucária (*Araucaria angustifolia*) e de *Podocarpus*, que se concentram nos vales, grotões e encostas com maior umidade e em solos mais protegidos (REGIÃO DE CAMPOS DO JORDÃO, 2008).

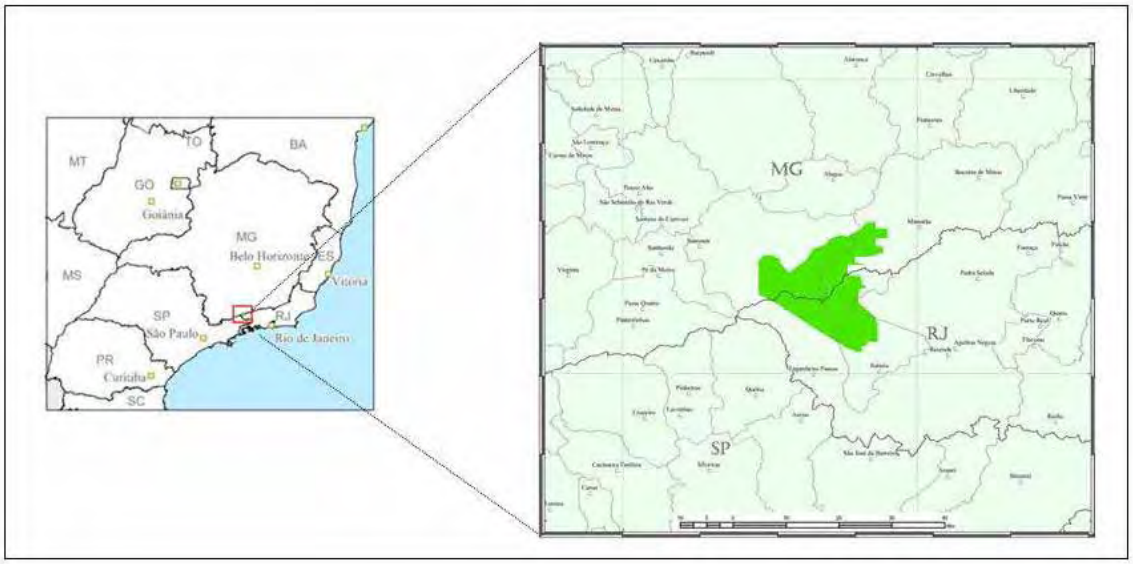


Figura 12. Localização do Parque Nacional do Itatiaia (RJ/MG). Fonte: Ibama (http://www.ibama.gov.br/siucweb/listaUcCategoria.php?abrev=PARNA).

Fragmentos florestais no noroeste paulista – FFNP (Figura 14)

A Floresta Estacional Semidecidual foi a vegetação predominante no noroeste do estado de São Paulo, mas hoje encontra-se profundamente fragmentada. Essa formação caracteriza-se por abrigar comunidades onde 20 a 50% dos indivíduos presentes no estrato superior perdem as folhas na estação seca. Está relacionada, em praticamente toda a sua área de ocorrência, a um clima de duas estações definidas, uma chuvosa e outra seca, ou então a uma acentuada variação térmica (VELOSO et al., 1991).

Atividades de coleta

O Parque Nacional da Serra do Mar, núcleo Picinguaba e áreas adjacentes foram amostrados durante o período de 14 a 18 de outubro de 2009, 17 a 20 de maio de 2011 e 17 a 23 de dezembro de 2012, a região de Campos do Jordão durante os dias 14 a 17 de novembro de 2009 e 12 a 16 de maio de 2012, o Parque Nacional de Serra da Canastra no período de 18 a 21 de janeiro de 2010 e 14 a 18 de março de 2012, o Parque Nacional de Itatiaia nos dias 9 a 12 de março de 2010, o Parque

Nacional da Chapada dos Veadeiros, durante o período de 5 a 9 de abril de 2010 e em fragmentos florestais do noroeste do estado de São Paulo, durantes os meses de novembro e dezembro de 2010.

Os trabalhos de campo foram concentrados no período considerado mais favorável ao desenvolvimento destes organismos, que é o chuvoso (LEMES-DA-SILVA et al., 2010), sendo essa uma condição relevante para as amostragens, principalmente em lugares com menor umidade, como é o caso do cerrado.

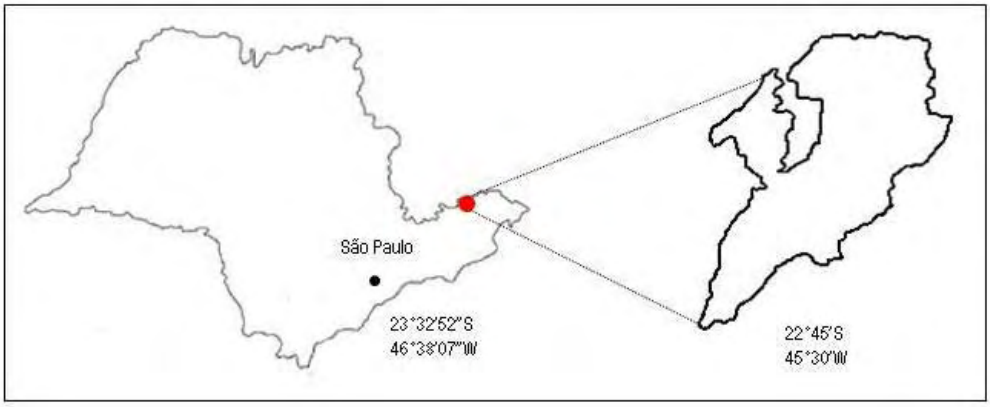


Figura 13. Localização da região de Campos do Jordão (SP) e área de mata de floresta ombrófila mista.

Figura 14. Localização da região noroeste do estado de São Paulo e área de ocorrência de floresta estacional semidecidual.

Nas áreas de estudo, as massas de Trentepohliales foram procuradas visualmente em todos os substratos disponíveis (solo, rochas, caules e folhas) por caminhada livre, durante, aproximadamente, três ou quatro dias, afim de estabelecer esforço amostral comparáveis entre as áreas e contemplando os tipos vegetacionais presentes em cada bioma.

Dentro dos biomas estudados, são encontradas distintas formações vegetais. No Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba, foram amostradas áreas de restinga e de floresta ombrófila densa, no Parque Nacional da Serra da Canastra, áreas de cerrado e de campos de altitude, e no Parque Nacional de Itatiaia, áreas de floresta ombrófila densa e campos de altitude. Em função das características do relevo local destas três áreas, foi investigada a variação da flora do grupo em função da variação de altitude. Deste modo, a coleta de organismos para esta avaliação foi feita ao longo do gradiente altitudinal, com elevações variando de 0 até 773 m, na região do Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba, de 789 até 1.473 m, na área do Parque Nacional da Serra da Canastra, e de 779 até 2.452 m, na área do Parque Nacional de Itatiaia .

Os crescimentos encontrados foram recolhidos com o auxílio de espátulas e canivetes e armazenados em sacos de papel rotulados com o nome da área, o tipo de substrato em que foi coletado e a data da coleta. Para cada localidade amostrada foram também registrados dados de posicionamento global e altitude (GPS Garmin E-trex Vista) (Tabelas 1 -).

4. Referências bibliográficas

AKIYAMA, M. On some Brazilian species of Trentepohliaceae. **Memoirs of the Faculty of Education Shimane University. Natural Sciences**, v. 5, p. 81-95, 1971.

BICUDO, C.E.M.; SANTOS, C.I. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 15: Chlorophyceae (Trentepohliales). **Hoehnea**, v. 28, p. 183-190, 2001.

BREMER, K. Summary of green plant phylogeny and classification. **Cladistics**, v. 1, p. 369-385, 2008.

BROOKS, F.E. Plant-parasitic algae (Chlorophyta: Trentepohliales) in American Samoa. **Pacific Science**, v. 58, p. 419-428, 2004.

CHAPMAN, R.L. An assessment of the current state of our knowledge of the Trentepohliaceae. In: IRVINE, D.E.G.; JOHN, D.M. **Systematics of the Green Algae**. London: Academic Press, v. 27, p. 233-250, 1984.

CRIBB, A.B. The genus *Trentepohlia* in south-eastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 3, p. 193-201, 1958a.

CRIBB, A.B. Records of Trentepohliaceae from Papua I. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 3, p. 202-205, 1958b.

CRIBB, A.B. Further records of *Trentepohlia* from southeastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 4, p. 75-81, 1963.

CRIBB, A.B. *Phycopeltis kosteriana* sp. n., an epiphyllous alga of the family Chroolepidaceae from Australia. **Blumea**, v. 15, p. 3-4, 1967.

CRIBB, A.B. Some Trentepohlias new to Australia. **Phykos**, v. 7, p. 3-8, 1968.

CRIBB, A.B. A revision of some species of *Trentepohlia* especially from Queensland. **Proceedings of the Royal Society of Queensland**, v. 82, 17-34, 1970.

CRIBB, A.B. Some Trentepohliaceous algae from the Carnarvon Gorge. **Queensland Naturalist**, v. 20, p. 90-91, 1972.

CRIBB, A.B. Some species of *Trentepohlia* from Java and Bali. **Queensland Naturalist**, v. 27, p. 31-33, 1987.

CRIBB, A.B. The algal genus *Trentepohlia*. **Queensland Naturalist**, v. 29, p. 107-113, 1989.

CRIBB, A.B. The alga *Trentepohlia ellipsiocarpa* var. *africana* new to Australia. **Queensland Naturalist**, v. 32, p. 14-15, 1993.

DAVIS, J.S.; RANDS, D.G. Observations on lichenized and free−living *Physolinum* (Chlorophyta, Trentepohliaceae). **Journal of Phycology**, v. 29, p. 819-825, 1993.

DAVIS, J.S.; RANDS, D.G.; LACHAPELLE, M. Heavily lichenized Physolinum (Chlorophyta) from a dimly lit cave in Missouri. **Journal of Phycology**, v. 25, p. 419-428, 1989.

DE WILDEMAN, E. Les espèces du genre *Trentepohlia* Mart. (Chroolepus Ag.). **Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique**, v. 27, p. 22-25, 1888a.

DE WILDEMAN, E. Observations sur quelques formes du genre *Trentepohlia* Mart. **Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique**, v. 27, p. 136-144, 1888b.

DE WILDEMAN, E. Observations sur quelques formes d'algues terrestres épiphytes. **Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique**, v. 27, p. 119-126, 1888c.

DE WILDEMAN, E. Notes algologiques. I. *Trentepohlia lagerhevonium* De Wildeman. **Mémoires de la société royale de botanique de Belgique**, v. 29, p. 311-314, 1890.

DE WILDEMAN E. Les *Trentepohlia* des Indes Neerlandaises. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 9, p. 127-142, 1891.

FEIGE, G.B.; KREMER, B.P. Unusual carbohydrate pattern in *Trentepohlia* species. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1844-1845, 1980.

FLINT, E.A. The occurrence of zoospores in *Physolinum* Printz. **New Phytologist**, v. 58, p. 267-270, 1959.

GOOD, B.H.; CHAPMAN, R.L. The ultrastructure of *Phycopeltis* (Chroolepidaceae; Chlorophyta). I. Sporopollenin in the cell walls. **American Journal of Botany**, v. 65, p. 27-33, 1978.

GRAHAM, L.E.; WILCOX, L.W. **Algae**. USA: Prentice−Hall, 2000. 640p.

HARIOT, P. Note sur le genre *Cephaleuros*. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 3, p. 274-276, p. 284-288, 1889.

HARIOT, P. Notes sur le genre *Trentepohlia* Mart. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 4, p. 50-53, p. 85-92, p. 192-196, 1890.

HARIOT, P. Les trois *Trentepohlia*. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 7, p. 216, 1893.

IBDF (Instituto Brasileiro de desenvolvimento ambiental). **Plano de Manejo. Parque Nacional da Serra da Canastra**. Brasília: IBDF, 1981. 81p.

ISLAM, N. Some subaerial green algae from East Pakistan. **Transactions of the American Microscopical Society**, v. 79, p. 471-479, 1960.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO http://www.jbrj.gov.br/pesquisa/pma/itatiaia.htm. 2008. Acessado em 02/03/2012.

JOSE, G.; CHOWDARY, Y.B.K. New records of *Trentepohlia* from India. **Nova Hedwigia**, v. 32, p. 725-731, 1980.

KARSTEN, G. Untersüchungen über die Familie der Chroolepideen. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 10, p. 1-66, 1891.

KENRICK, P.; P.R. CRANE. The origin and early evolution of plants on land. **Nature**, v. 389, p. 33-39, 1997.

LEMES-DA-SILVA, N.M.; BRANCO, L.H.Z.; NECCHI-JUNIOR, O. Corticolous green algae from tropical forest remnants in the northwest region of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, p. 215-226, 2010.

LEWIS, L.A.; MCCOURT, R.M. Green algae and the origin of land plants. **American Journal of Botany**, v. 91, v. 1535-1556, 2004.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; CHAPMAN, R.L. Phylogenetic affinities of the Trentepohliales inferred from small-subunit rDNA. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, p. 53, v. 2099-2106, 2003.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; CASAMATA, A.D. The systematics of subaerial algae. In: SECHBACH, J. **Cell origin, Life in Extreme Habitats and**

Astrobiology. Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments. Netherlands: Springer, v. 11, p. 601-617, 2007.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; GUIRY, M.D. Molecular systematics of the green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p. 1709–1715, 2006.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; WATERS, D.A.; CHAPMAN, R.L. The Trentepohliales revisited. **Constancea** 83 http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez_etal/trentepohliales.html. 2002. Acessado em 02/03/2012.

MACHADO, G.E.M.; SILVA, B.S.O.; NASSAR, C.A.G. Macroalgas marinhas bentônicas do núcleo Picinguaba – Parque Estadual da Serra do Mar (Ubatuba - SP): Enseada da Fazenda. **Ver. Bras. Bioc.**, v. 5, p. 165-167, 2007.

MATTOX, K.R.; STEWART, K.D. Classification of the green algae: A concept based on comparative cytology. In: IRVINE, D.E.G.; JOHN, D.M. **Systematics of the Green Algae**. London & Orlando: Academic Press, p. 29–72, 1984.

MMA. Cadastro Nacional de Unidades de Conservação. http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=119&idConteudo=9677&idMenu=9744. 2010. Acessado em 02/03/2012.

MORAES, P.L.R.; MONTEIRO, R.; VENCOVSKY, R. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p. 237-248, 1999.

NEUSTUPA, J. The genus Phycopeltis (Trentepohliales, Chlorophyta) from tropical southeast Asia. **Nova Hedwigia**, v. 76, p. 487-505, 2033

NEUSTUPA, J. Investigations on the genus *Phycopeltis* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from South-East Asia, including the description of two new species. **Cryptogamie, Algologie**, v. 26, p. 229-242, 2005.

PANIKKAR, M.V.N.; SINDHU, P. Species of *Trentepohlia* from Kerala. **Journal of Economic Taxonomic Botany**, v. 17, 199-204, 1993.

REGIÃO DE CAMPOS DO JORDÃO http://homologa.ambiente.sp.gov.br/parques/camposjordao.htm. 2008. Acessado em 02/03/2012.

PATTANAIK, B.; SCHUMANN, R.; KARSTEN, U. Effects of ultraviolet on cyanobacteria and their protective mechanisms. In: SECHBACH, J. **Cell origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology. Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments**. Netherlands: Springer, v. 11, p. 29-45, 2007.

PATTERSON, G.W.; VALKENBURG, S.V. Sterols of *Cephaleuros* (Trentepohliaceae), a parasitic green alga. **Journal of Phycology**, v. 27, p. 549-551, 1991.

PRINTZ, H. Subaerial algae from South Africa. Kongelige Norske Videnskabers **Selskab Skrifter**, v. 1, p. 3-41, 1921.

PRINTZ, H. Trentepohliaceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. Die natürlichen Pflanzenfamilien. **Verlag von Wilhelm Engelmann**. p. 217-225, 1927.

PRINTZ, H. Vorarbeiten zu einer Monographie der Trentepohliaceen. **Nytt Magasin for Naturvidenskapene**, v. 80, p. 137-210, 1939.

PRINTZ, H. Die Chaetophoralen der Binnengewasser. Eine systematische Ubersicht. **Hydrobiologia**, v. 24, p. 1-76, 1964.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. Diversity, life history and Ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban habitats in Western Ireland. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 39-54, 2002.

RIND, F.; GUIRY, M.D. Composition and distribution of subaerial algal assemblages in Galway City, western Ireland. **Cryptogamie, Algologie**, v. 24, p. 245-267, 2003.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; CRITCHLEY, A.; AR GALL, E. The distribution of some species of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in France. **Cryptogamie, Algologie**, v. 24, p. 133-144, 2003.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New records of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Africa. **Nova Hedwigia**, v. 83, p. 431-449, 2006.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New and interesting records of *Trentepohlia* (Trentepohliales, Chlorophyta) from French Guiana, including the description of two new species. **Phycologia**, v. 46, p. 698-708, 2007.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Diversity and ecology of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in French Guiana. **Cryptogamie, Algologie**, v. 29, p. 13-43, 2008.

RINDI, F.; SHERWOOD, A.R.; GUIRY, M.D. Taxonomy and distribution of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in the Hawaiian Islands. **Phycologia**, v. 44, p. 270-284, 2005.

SLUIMAN, H. The green algal class Ulvophyceae: an ultrastructural survey and classification. **Cryptogamic Botany**, v. 1, p. 83-94, 1989.

THOMPSON, R.H.; WUJEK, D. **Trentepohliales: *Cephaleuros*, *Phycopeltis*, and *Stomatochroon*. Morphology, Taxonomy, and Ecology.** India: Science Publishers, 1997. 149 p.

TRACANNA, B.C. Trentepohliales (Chlorophyta): el género *Trentepohlia* Martius para las províncias de Salta y Tucumán (Argentina). **Lilloa**, v. 37, p. 47-59, 1989.

VAN DEN HOEK, C.; MANN, D.G.; JAHNS, H.M. **Algae**. **An introduction to Phycology.** Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1995. 623 p.

VELOSO, H.P.; RANGEL FILHO, A.L.R.; LIMA, J.C.A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada ao sistema universal.** Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1991. 124p.

Tabela 1. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **restinga** da região do Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba.

Amostra	Substrato	Temp. (°C)	URA (%)	Irradiância (%)	pH
1	Tronco	27,3	84,0	100,0	5,0
2	Tronco	26,5	86,5	100,0	5,0
3	Areia	26,3	91,6	100,0	6,0
4	Tronco	25,6	89,6	100,0	5,0
5	Folha	25,2	89,7	100,0	5,0
6	Tronco	25,0	87,2	100,0	5,0
7	Folha	24,7	85,2	100,0	6,0
8	Tronco	25,1	92,0	100,0	5,0
9	Tronco	24,8	89,5	100,0	5,0
10	Folha	25,0	91,4	100,0	5,0
11	Folha	24,1	85,5	100,0	6,0
12	Folha	24,6	86,2	50,0	5,0
13	Tronco	24,2	88,6	50,0	5,0
14	Tronco	23,7	96,1	50,0	5,0
15	Tronco	25,1	87,5	70,0	5,0
16	Folha	24,5	89,7	70,0	5,0
17	Tronco	24,2	90,2	70,0	5,0
18	Tronco	24,7	86,3	100,0	4,0

Tabela 2. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **interior de floresta ombrófila densa** da região do Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba.

Amostra	Substrato	Temp. (°C)	URA (%)	Irradiância (%)	pH
1	Muro pedra	25,0	90,0	0,0	*
2	Tronco	24,0	92,0	20,0	5,0
3	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
4	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
5	Folha	24,0	92,0	20,0	6,0
6	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
7	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
8	Tronco	24,0	92,0	20,0	5,0
9	Tronco	24,0	92,0	20,0	6,0
10	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
11	Folha	24,0	92,0	20,0	5,0
12	Tronco	24,0	92,0	50,0	6,0
13	Folha	22,0	96,0	30,0	5,0
14	Folha	22,0	96,0	30,0	5,0
15	Tronco	22,0	96,0	30,0	4,0
16	Folha	22,0	96,0	30,0	5,0
17	Folha	22,0	96,0	30,0	6,0
18	Folha	22,0	96,0	30,0	5,0
19	Folha	22,5	98,0	40,0	6,0
20	Rocha	22,5	98,0	40,0	5,0
21	Folha	22,5	98,0	40,0	6,0
22	Tronco	24,0	98,0	0,0	5,0
23	Poste	24,0	98,0	100,0	*
24	Madeira	24,0	98,0	100,0	5,0

*Dados não disponíveis.

Tabela 3. Amostras de Trentepohliales coletados na área de **borda de floresta ombrófila densa** da região do Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temp. (°C)	URA (%)	Irradiância (%)	pH
1	23°46'19,7''	45°56'39,8''	800	Solo	24,0	98,0	100,0	4,0
2	23°46'19,7''	45°56'39,8''	800	Tronco/folha	25,0	72,0	100,0	5,0
3	23°45'12,0''	45°45'31,1''	43	Tronco	24,5	72,0	100,0	5,0
4	23°46'15,2''	45°42'11,8''	43	Rocha	24,5	86,0	100,0	4,0
5	23°47'05,9''	45°35'51,4''	270	Poste/Folha	23,0	90,0	100,0	7,0
6	23°31'16,1''	45°32'14,4''	773	Solo	23,0	92,0	100,0	3,0
7	23°31'16,1''	45°32'14,4''	773	Solo	23,0	92,0	100,0	4,0
8	23°31'16,1''	45°32'14,4''	773	Folha	23,0	92,0	100,0	4,0
9	23°31'16,1''	45°32'14,4''	773	Solo	23,0	92,0	100,0	4,0
10	23°35'16,7''	45°26'55,2''	596	Solo	22,5	91,0	100,0	4,0
11	23°35'16,7''	45°26'55,2''	596	Folha	22,5	91,0	100,0	5,0
12	23°35'54,0''	45°26'03,9''	113	Rocha	22,5	95,0	100,0	4,0
13	23°30'54,0''	45°07'54,2''	0	Rocha	24,0	95,0	100,0	6,0
14	23°30'54,0''	45°07'54,2''	0	Rocha	25,0	95,0	100,0	5,0
15	23°30'54,0''	45°07'54,2''	0	Tronco	25,0	94,0	100,0	4,0
16	23°30'54,0''	45°07'54,2''	0	Poste	24,0	94,0	100,0	*
17	23°21'37,6''	44°46'37,7''	160	Concreto/Folha	23,8	98,0	100,0	6,0
18	23°35'24,1''	45°26'30,6''	413	Tronco	25,0	90,0	100,0	5,0
19	23°35'24,1''	45°26'30,6''	413	Rocha	25,0	86,0	100,0	6,0
20	23°35'26,8''	45°26'44,2''	509	Tronco	26,0	90,0	100,0	6,0
21	23°35'26,8''	45°26'44,2''	509	Tronco	25,0	85,0	100,0	4,0
22	23°35'26,8''	45°26'44,2''	509	Bambu (caule)	24,0	84,0	100,0	5,0
23	23°35'42,5''	45°27'24,5''	686	Tronco	24,0	90,0	100,0	5,0
24	23°35'42,5''	45°27'24,5''	686	Solo	25,0	90,0	100,0	5,0

*Dados não disponíveis.

Tabela 4. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **borda de floresta ombrófila mista** da região de Campos do Jordão.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	22°41'22,5''	45°28'53,2"	1486	Tronco	14,0	70,0	145/10	5,0
2	22°41'22,5''	45°28'53,2"	1486	Tronco	14,0	70,0	145/10	4,0
3	22°41'22,5''	45°28'53,2"	1486	Folha	14,0	70,0	145/10	5,0
4	22°41'22,5''	45°28'53,2"	1486	Tronco	14,0	70,0	145/10	5,0
5	22°41'41,8''	45°30'22,6"	1527	Tronco	13,0	56,8	162/11	4,0
6	22°41'42,4''	45°30'22,5"	1524	Tronco	15,0	58,0	103/7	5,0
7	22°41'43,7''	45°30'50,2"	1524	Tronco	16,0	56,0	430/18	5,0
8	22°47'08,9''	45°42'44,3"	970	Tronco	33,0	55,0	1870/78	4,0
9	22°45'57,1''	45°45'27,1"	1250	Folha	27,0	48,5	270/11	5,0
10	22°45'32,2''	45°39'06,7"	1362	Tronco	22,0	54,0	170/10	5,0
11	22°45'31,6''	45°3906,7"	1357	Tronco	21,0	51,0	250/15	6,0
12	22°45'08,5''	45°37'54,9"	1660	Parede	18,0	47,0	95/4	7,0
13	22°45'07,1''	45°37'49,6"	1657	Tronco	19,0	47,0	102/5	6,0
14	22°45'05,6''	45°37'34,9"	1681	Poste	34,0	51,0	2430/100	5,0
15	22°45'04,3''	45°37'34,6"	1678	Solo/Rocha	27,0	50,0	670/27	4,5
16	22°44'28,6''	45°36'07,0"	1674	Poste	23,0	42,0	199/65	7,0
17	22°44'28,6''	45°36'07,0"	1674	Tronco	22,0	51,5	208/69	5,0
18	22°44'17,1''	45°34'10,4"	1619	Tronco	21,0	50,0	380/48	5,0

Tabela 4. Continuação.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
19	22°44'17,1''	45°34'10,4"	1619	Rocha	18,0	53,5	48/6	7,0
20	22°44'17,1''	45°34'10,4"	1619	Folha	18,0	53,5	72/10	5,0
21	22°44'17,1''	45°34'10,4"	1619	Tronco	22,0	42,8	475/41	7,0
22	22°45'55,2''	45°31'21,2"	1873	Solo/rocha	21,0	65,2	108/9	5,0
23	22°45'55,2''	45°31'21,2"	1873	Solo/Rocha	18,0	64,3	33/3	4,0
24	22°46'0,8"	45°31'22,2"	2035	Parede	21,0	62,0	79/26	5,5
25	22°42'14,1''	45°35'06,4"	1780	Solo	13,0	77,8	276/91	4,0
26	22°41'48,7''	45°35'40,5"	1676	Rocha	17,0	64,8	54/18	4,0
27	22°40'22,4''	45°35'26,2"	1417	Muro de pedra	17,0	61,0	260/100	6,0
28	22°38'43,4''	45°37'13,5"	1619	Poste de madeira	18,0	60,0	160/53	4,0
29	22°38'43,4''	45°37'12,3"	1624	Folha	20,0	60,0	258/85	5,0
30	22°40'50,7''	45°39'02,2"	1811	Tronco	18,0	48,2	250/100	5,0
31	22°40'38,6''	45°38'54,5"	1778	Poste/Tronco	22,0	55,3	250/100	4,0
32	22°40'38,6''	45°38'54,5"	1778	Folha	22,0	55,3	305/100	5,0
33	22°40'20,3''	45°37'23,7"	1810	Tronco	20,0	53,5	305/100	4,0
34	22°40'20,3''	45°37'23,7"	1810	Folha	20,0	53,5	25/100	5,0
35	22°42'21,5''	45°34'37,6"	1748	Tronco	15,0	58,1	39/25	5,0

Tabela 5. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **cerrado** da região do Parque Nacional da Serra da Canastra.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	20°38'18,2''	46°07'45,1''	867	Tronco	25,0	69,0	2030/100	5,0
2	20°15'44,0''	46°24'00,1''	988	Rocha	25,0	68,8	575/28	4,0
3	20º18'04,0''	46º31'19,0''	1190	Tronco	25,0	55,5	330/16	4,0
4	46º31'19,0''	46º31'19,0''	1190	Folha	32,0	35,5	570/17	4,0
5	20°17'50,2''	46°31'49,6''	1205	Folha	23,0	45,0	820/25	4,0
6	20°17'54,7''	46°31'49,1''	1210	Folha	28,0	50,0	512/100	4,0
7	20°17'55,3''	46°31'48,3''	1205	Rocha	28,0	51,0	612/100	4,0
8	20°17'56,6''	46°31'46,2''	1204	Rocha	25,0	51,0	530/100	3,5
9	20°17'56,6''	46°31'46,2''	1204	Tronco	23,0	76,7	530/100	4,5
10	20°17'56,6''	46°31'46,2''	1204	Folha	23,0	76,7	530/100	5,0
11	20°17'59,6''	46°31'42,1''	1177	Tronco	20,0	62,0	88/100	4,0
12	20°17'59,6''	46°31'42,1''	1177	Rocha	23,0	73,5	168/100	4,0
13	20°17'58,9''	46°31'47,9''	1130	Folha	20,0	62,5	208/100	4,5
14	20°18'05,0''	46°31'45,1''	1090	Folha	26,0	61,5	208/100	4,0
15	20°18'12,0''	46°31'43,2''	1050	Folha	26,0	63,5	208/100	4,0
16	20°18'16,6''	46°31'44,2''	1010	Folha	24,0	61,0	550/100	4,0

Tabela 5. Continuação.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
17	20°18'21,5''	46°31'39,8''	976	Folha	23,0	60,5	202/100	4,0
18	20°18'32,5''	46°31'23,6''	883	Tronco	26,0	73,0	178/100	4,0
19	20°18'17,2''	46°31'25,8''	880	Folha	26,0	60,0	190/100	7,0
20	20°18'17,2''	46°31'25,8''	880	Solo	26,0	60,0	190/100	4,0
21	20°15'32,4''	46°25'18,7''	1345	Tronco	26,0	58,0	2290/80	4,5
22	20°15'32,4''	46°25'18,7''	1345	Folha	26,0	52,0	2290/80	4,0
23	20°14'34,5''	46°26'47,6''	1360	Rocha	27,0	57,0	850/47	4,0
24	20°13'37,0''	46°26'58,0''	1473	Folha	30,0	52,0	2260/100	4,0
25	20°13'07,2''	46°28'38,7''	1465	Rocha	22,0	49,0	73/100	5,0
26	20°14'23,2''	46°30'26,4''	1388	Folha	36,0	54,0	3480/100	5,0
27	20°10'31,2''	46°36'35,6''	1195	Rocha	45,0	44,5	1120/100	5,0
28	20°12'00,7''	46°34'22,4''	1348	Folha	29,0	43,5	1965/100	5,0
29	20°12'54,6''	46°34'18,4''	1375	Folha	30,0	38,5	2400/100	5,0
30	20°12'49,4''	46°22'59,1''	840	Solo/tronco	23,0	76,3	305/44	5,0
31	20°11'32,3''	46°23'08,2''	789	Tronco	24,0	70,0	40/44	3,0
32	20°11'32,3''	46°23'08,2''	789	Tronco	23,0	70,0	40/44	5,0
33	20°11'32,3''	46°23'08,2''	789	Folha	23,0	71,0	40/44	6,0

Tabela 6. Amostras das Trentepohliales coletadas na área de **borda de floresta ombrófila densa** da região do Parque Nacional de Itatiaia.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	22°27'32,4''	44°36'25,3''	787	Rocha	19,0	69,5	25/14	5,0
2	*	*	*	Cimento	19,0	70,0	180/100	*
3	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Rocha	16,0	67,5	10/86	4,0
4	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Rocha	16,0	70,0	13/43	4,0
5	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Folha	18,0	70,0	20/20	5,0
6	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Folha	18,0	65,0	31/31	5,0
7	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Folha	18,0	60,0	17/25	5,0
8	22°25'38,4''	44°37'14,8''	1110	Rocha	16,0	62,5	11/39	*
9	*	*	*	Folha	18,0	61,5	20/*	5,0
10	*	*	*	Folha	19,0	70,0	20/*	5,0
11	*	*	1150	Folha	18,0	66,0	22/*	5,0
12	*	*	1150	Tronco	18,0	65,5	154/66	5,0
13	*	*	1100	Poste concreto	23,0	75,0	184/80	5,0
14	*	*	*	Rocha	20,0	70,0	233/100	*
15	*	*	*	Folha	21,0	60,0	25/*	5,0
16	*	*	*	Folha	22,0	61,0	26/*	5,0
17	*	*	*	Folha	21,0	70,0	76/*	5,0
18	*	*	*	Folha	21,0	70,0	76/*	4,0

Tabela 6. Continuação.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
19	*	*	*	Rocha	20,0	70,0	36/*	4,0
20	*	*	*	Rocha	20,0	70,0	36/*	*
21	*	*	*	Tronco	22,0	86,0	41/47	5,0
22	*	*	1100	Folha	21,0	67,5	520/100	4,0
23	22°27'36,7''	44°36'08,8"	782	Rocha	21,0	77,0	74/4	*
24	22°27'36,7''	44°36'08,8"	782	Poste concreto	20,0	74,0	100/6	*
25	22°27'36,7''	44°36'08,8"	782	Cimento	19,0	71,9	19/1	*
26	22°27'36,7''	44°36'08,8"	782	Cimento	22,0	71,9	36/24	5,0
27	22°27'37,1''	44°36'11,8"	779	Poste concreto	21,0	74,1	69/30	*
28	22°27'15,1''	44°36'19,9"	831	Tronco	20,0	71,5	25/30	5,0
29	22°27'15,1''	44°36'19,9"	831	Tronco	20,0	66,5	11/1	5,0
30	22°27'15,1''	44°36'19,9"	831	Líquen	20,0	70,0	25/50	5,0
31	22°27'15,1''	44°36'19,9"	831	Poste concreto	21,0	70,5	35/3	*
32	22°26'58,8''	44°36'20,4"	868	Poste concreto	21,0	63,5	850/67	*
33	22°26'42,0''	46°36'37,0"	879	Tronco	25,0	58,5	215/10	5,0
34	22°26'31,9''	44°36’42,2"	1009	Rocha	21,0	50,5	15/1	5,0
35	22°25'51,6''	44°37'00,7"	1087	Concreto	22,0	61,5	46/21	6,0

* Dados não disponíveis.

Tabela 7. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **campos de altitude** da região do Parque Nacional de Itatiaia.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
36	22°21'57,9"	44°44'48,3"	1933	Rocha	14,0	74,2	67/3	*
37	22°21'57,9"	44°44'48,3"	1933	Cimento	16,0	51,2	2026/94	*
38	22°22'28,1"	44°42'03,0"	2452	Rocha	10,0	49,0	79/3	*
39	22°22'28,1"	44°42'03,0"	2452	Rocha	7,0	55,5	101/41	*
40	22°22'28,8"	44°42'02,1"	2542	Folha	16,0	50,5	2476/100	5,0
41	22°22'34,8"	44°41'47,6"	2452	Rocha	18,0	44,0	336/11	4,0
42	22°22'38,9"	44°41'38,2"	2421	Rocha	21,0	53,0	265/16	4,0
43	22°23'06,7"	44°40'43,0"	2385	Rocha	16,0	41,0	42/2	*
44	22°23'12,9"	44°40'37,0"	2378	Rocha	12,0	46,5	360/38	4,0
45	22°22'19,8"	44°42'29,0"	2405	Rocha	17,0	47,2	172/13	4,0
46	22°21'57,6"	44°42'58,2"	2348	Rocha	14,0	52,6	299/33	3,0
47	22°21'54,1"	44°44'28,7"	1980	Rocha	18,0	52,2	106/45	*
48	22°22'30,2"	44°45'18,6"	1795	Tronco	18,0	52,3	20/10	5,0

* Dados não disponíveis.

Tabela 8. Amostras de Trentepohliales coletadas na área de **cerrado** da região do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância (µmol.m^{-2}.s^{-1}/%)	pH
1	14°09’39,6”	47°49’34,1”	892	Folha	34	52,7	1133/100	*
2	14°09’39,6”	47°49’34,1”	892	Folha	40	37,0	3200/100	*
3	14°09’57,3”	47°50’38,4”	845	Folha	33	38,3	210/100	*
4	14°09’58,2”	47°50’39,0”	833	Folha	28	58,0	210/100	*
5	14°09’58,2”	47°50’39,0”	833	Folha	25	60,0	210/100	*
6	14°09’58,4”	47°50’47,1”	763	Folha	26	73,6	845/100	*
7	14°10’18,8”	47°47’47,3”	1034	Folha	23	74,0	845/100	*
8	14°07’44,7”	47°38’10,0”	1215	Folha	20	70,0	790/100	*

*Dados não disponíveis.

Tabela 9. Amostras de Trentepohliales coletadas no fragmento Macaubal de **floresta estacional semidecidual** da região noroeste do estado de São Paulo.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	20°44'24,9"	49°55'52,4"	519	Folha	28,0	49,3	29,2	5,0
2	20°44'25,1"	49°55'51,7"	476	Folha	28,0	51,5	44,9	5,0
3	20°44'25,3"	49°55'51,3"	474	Tronco	28,0	55,0	40,5	5,0
4	20°44'25,0"	49°55'51,2"	473	Tronco	25,0	55,6	21,7	5,0
5	20°44'24,9"	49°55'50,9"	473	Tronco	27,0	56,3	27,7	5,0
6	20°44'24,9"	49°55'50,9"	473	Tronco	26,0	58,5	28,6	5,0
7	20°44'24,9"	49°55'50,5"	473	Folha	29,0	59,1	115,2	5,0
8	20°44'24,9"	49°55'50,5"	473	Folha	29,0	57,1	34,5	5,0
9	20°44'25,1"	49°55'49,8"	473	Folha	29,0	56,7	47,8	5,5
10	20°44'25,1"	49°55'49,8"	473	Folha	29,0	55,5	88,9	5,0
11	*	*	*	Tronco	29,0	58,8	43,5	5,0
12	20°44'25,6"	49°55'48,1"	470	Folha	30,0	57,2	112,8	5,0
13	20°44'26,6"	49°55'46,0"	472	Folha	30,0	54,1	126,2	5,0
14	20°44'26,9"	49°55'47,1"	478	Folha	30,0	57,7	64,3	4,0
15	20°44'29,7"	49°55'56,3"	492	Tronco	31,0	49,0	175,7	4,0

*Dados não disponíveis.

Tabela 10. Amostras de Trentepohliales coletadas no fragmento União Paulista de **floresta estacional semidecidual** da região noroeste do estado de São Paulo.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	20°55'39.1"	49°55'43.1"	472	Tronco	31,0	53,7	76,5	5,0
2	20°55'33.8"	49°55'43.8"	474	Tronco	31,0	52,8	62,1	5,0
3	20°55'32.7"	49°55'43.9"	475	Tronco	36,0	49,8	144,9	5,0
4	20°55'32.3"	49°55'43.9"	474	Tronco	32,0	53,3	90,5	4,0
5	20°55'31.2"	49°55'43.5"	473	Tronco	33,0	57,3	811,0	4,0
6	20°55'30.7"	49°55'43.1"	474	Tronco	31,0	48,0	90,4	5,0

Tabela 11. Amostras de Trentepohliales coletadas no fragmento Taqaritinga de **floresta estacional semidecidual** da região noroeste do estado de São Paulo.

Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Substrato	Temperatura (°C)	URA (%)	Irradiância ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$/%)	pH
1	21°24'25.3''	48°41'21.2''	524	Folha	17,0	72,0	65,2	5,0
2	21°24'25.3''	48°41'21.2''	524	Folha	17,0	72,0	65,2	6,0
3	21°24'24.7''	48°41'20.9''	526	Tronco	18,0	68,2	11,0	5,0
4	21°24'24,7''	48°41'21.4''	526	Tronco	18,0	73,0	24,3	5,0
5	21°24'24.3''	48°41'22.1''	526	Folha	18,0	73,5	87,9	6,0
6	21°24'24.1''	48°41'22.1''	526	Folha	18,0	75,2	95,3	5,0
7	21°24'24.1''	48°41'22.1''	526	Folha	18,0	78,0	78,1	6,0
8	21°24'23.8''	48°41"22.6"	543	Tronco	18,0	78,0	27,9	5,0
9	21°24'16.8''	48°41'06.4''	534	Folha	20,0	72,5	132,7	6,0
10	21°24'15.8''	48°41'06.6''	532	Folha	19,0	72,8	21,6	6,0
11	*	*	*	Folha	21,0	73,9	112,3	5,0
12	21°24'15.4''	48°41'07.5''	532	Folha	22,0	80,1	83,9	7,0
13	21°24'15.2''	48°41'07.3''	532	Tronco	21,0	77,4	13,21	5,0
14	21°24'15.1''	48°41'07.4''	531	Tronco	21,0	75,0	46,32	5,0
15	21°24'14.9''	48°41'07.5''	532	Tronco	22,0	78,9	145,7	5,0
16	21°24'14.7''	48°41'07.5''	530	Tronco	21,0	76,3	44,7	5,0
17	21°24'12.9''	48°41'02.7''	534	Folha	25,0	68,7	481,7	7,0
18	21°24'12.9''	48°41'02.7''	534	Tonco	25,0	68,7	481,7	7,0

Capítulo II

Flora de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) filamentosas de biomas brasileiros

1. Resumo

Trentepohlia e *Printzina* são os gêneros de Trentepohliales cujos membros possuem morfologia prevalentemente filamentosa. Esses organismos são encontrados crescendo em praticamente todos os tipos de substratos, em caules de árvores, rochas, solos, substratos artificiais (muros, postes) e, em alguns casos, são observados crescendo em folhas. A flora desse grupo foi levantada em alguns biomas brasileiros, em uma ampla área geográfica, e objetivando contribuir com as informações sobre ocorrência das espécies em território nacional e apresentar as características morfológicas das espécies/populações encontradas. O levantamento foi realizado em seis áreas do Brasil, incluindo cinco biomas distintos: cerrado, nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra) e Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros), floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia), restinga, no estado de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (Região de Campos do Jordão), e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista). Nesse estudo, foram observadas 21 espécies filamentosas, das quais, cinco pertencem ao gênero *Printzina* e as outras 16, à *Trentepohlia*. Esse levantamento revelou uma flora diversa de Trentepohliales filamentosas para o Brasil, além de, possivelmente, oito novas ocorrências (*Printzina lagenifera*, *Trentepohlia abietina* var. *tenue*, *T.* cf. *chapmanii*, *T. depressa*, *T.* cf. *iolithus*, *T. odorata*, *T. peruana* e *T. umbrina*) e possíveis novos táxons específicos. Esse resultado coincide com levantamentos feitos em outras áreas da região tropical e reitera a elevada diversidade e importância dessas algas em ambientes ecologicamente equivalentes.

2. Introdução

A ordem Trentepohliales, composta por uma família, Trentepohliaceae, possui cinco ou seis gêneros, dependendo da classificação utilizada (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002). Alguns representantes são considerados filamentosos, ou seja, são formados por células sequenciais, originando filamentos, que podem assumir uma grande variedade morfológica: longos ou curtos, afilados ou cilíndricos, ramificados ou não.

Dentre todos os gêneros da ordem (*Cephaleuros*, *Phycopeltis*, *Stomatochroon*, *Trentepohlia* e *Printzina*), os dois últimos possuem morfologia prevalentemente filamentosa. Esses organismos são encontrados crescendo em praticamente todos os tipos de substratos, em caules de árvores, rochas, solos, substratos artificiais (muros, postes) e, em alguns casos, são observados crescendo em de folhas (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

Trentepohlia Martius, nom. cons., descrito em 1817, é o gênero mais conhecido e mais bem distribuído geograficamente entre as Trentepohliales (RINDI et al., 2003). O nome genérico remonta de 1794 (SARMA, 1986) e foi previamente aplicado a musgos, algas vermelhas marinhas e até a algumas angiospermas, como Cruciferae e Cyperaceae (HARIOT, 1893; SILVA 1952).

Três das monografias mais completas sobre o grupo, as quais fazem parte dos primeiros esforços taxonômicos de Trentepohliales, realizadas por Hariot (1889, 1890) e Printz (1939), dividem *Trentepohlia* em três seções: *Chroolepus*, *Heterothallus* e *Nylandera*. A primeira inclui organismos com talos crescendo irregularmente sobre o substrato, sem diferenciação entre sistemas eretos e prostrados e os pelos unicelulares são ausentes. *Heterothallus* compreende as formas que possuem diferenciação entre os sistemas prostrado e ereto e que não possuem pelos unicelulares. E por último, *Nylandera*, que engloba os organismos com pelos unicelulares (SARMA, 1986).

A circunscrição dos gêneros de Trentepohliales filamentosas ainda é confusa e divergente entre os autores, considerando a existência de julgamentos diversos sobre a existência dos gêneros *Physolinum* e *Printzina* (informações detalhadas no Capítulo I).

Estudos recentes reconhecem aproximadamente 40 espécies de *Trentepohlia*, distribuídas pelas regiões tropicais, subtropicais e temperadas (RINDI et al., 2009b). Essas espécies formam, geralmente, massas felpudas, alaranjadas a verdes, dependendo da quantidade de carotenoides acumulada no citoplasma. Essa coloração característica é compartilhada pelos outros gêneros da ordem (CHAPMAN & WATERS, 2002).

As principais características usadas para separação das espécies são hábito do talo, padrão de ramificação, forma e tamanho das células vegetativas, morfologia e arranjo das estruturas reprodutivas e presença de pelos nas células (RINDI et al., 2005). Algumas espécies de *Trentepohlia*, em especial, *T. arborum* (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008), formam associações com fungos (ascomicetos), originando o líquen, *Coenogonium interplexum*, muito comum em regiões tropicais.

Estudos sobre a diversidade desses organismos têm sido realizados desde que o gênero foi descrito, principalmente em regiões europeias e australianas. Outros trabalhos foram realizados na África, América do Norte (Estados Unidos da América) e, mais recentemente, na América Central (Panamá), América do Sul (Guiana Francesa e Brasil). Muitos desses trabalhos mostraram coincidência nas espécies encontradas, confirmando que grande parte das espécies de Trentepohliales é cosmopolita. Embora tenham sido encontradas em todas as regiões onde foram realizados levantamentos, os trabalhos em áreas de florestas tropicais revelaram alta diversidade desses organismos, indicando que essas áreas são centro de diversidade para o grupo (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

O Brasil possui grande variedade de formações vegetais, incluindo florestas úmidas, onde pouco se conhece sobre a diversidade e distribuição das

Trentepohliales. Alguns estudos já foram realizados, porém em área restrita do território nacional, abrangendo somente a área do Jardim Botânico do estado de São Paulo, (AKIYAMA, 1971; BICUDO & SANTOS, 2001) e florestas estacionais semideciduais do interior do estado (LEMES-DA-SILVA et al., 2010). Comparando esses levantamentos, alguns organismos foram encontrados nesses três estudos, no entanto, espécies diferentes foram, consecutivamente, registradas a partir do primeiro estudo, revelando que muito dessa diversidade ainda permanece desconhecida.

Esse estudo tem o objetivo de apresentar a flora de Trentepohliales filamentosas de alguns biomas brasileiros, em uma ampla área geográfica, e assim, contribuir com as informações sobre ocorrência das espécies em território nacional e apresentar as características morfológicas das espécies/populações encontradas.

3. Material e métodos

O levantamento foi realizado em seis áreas do Brasil, incluindo cinco biomas distintos: cerrado, nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra - PNSC) e Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros - PNCV), floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba - PESM) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia - PNI), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (região de Campos do Jordão - RCJ), e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista - FFNP).

Os trabalhos de campo foram concentrados no período considerado mais favorável ao desenvolvimento destes organismos, que é o chuvoso (LEMES-DA-SILVA et al., 2010), sendo essa uma condição relevante para as amostragens, principalmente em lugares com menor umidade, como é o caso do cerrado.

Parte do material coletado foi armazenada em sacos de papel e mantida em geladeira para maior conservação das características morfológicas. Outra parte representativa desse material foi preservada em formaldeído 4% e depositada no

Herbário SJRP (IBILCE/UNESP – campus de São José do Rio Preto – HOLMGREN & HOLMGREN, 1998) para testemunho.

Os espécimes foram observados, primeiramente, em microscópio estereoscópico (Olympus SZX7) para visualização e registro das características gerais da massa. Posteriormente, os organismos foram estudados sob microscópio de luz (Olympus BX50), acoplado a um sistema de captura de imagens.

Os critérios morfológicos utilizados para a avaliação morfológica e estudo taxonômico foram: forma do talo, separação de sistemas prostrados e eretos, características das células vegetativas (forma, tamanho e proporção), características dos cloroplastos e características da estrutura de reprodução (forma, tamanho, disposição e localização do esporângio ou gametângio). Foram feitas 30 observações, sempre que possível, de cada uma dessas características, indicadas na literatura como importantes para a taxonomia do grupo, para cada população encontrada.

São apresentadas chaves dicotômicas paras identificação dass morfoespécies encontradas, assim como descrições, locais de ocorrência e comentários taxonômicos.

Na chave e nas descrições das morfoespécies, foram utilizadas as seguintes abreviações: diam. (diâmetro), compr. (comprimento) e RC/L (relação comprimento/largura celular).

4. Resultados

Nesse levantamento de flora de Trentepohliales, foram observados 21 táxons filamentosos (20 espécies e uma variedade), dos quais, cinco pertencem à *Printzina* e as outras 16, à *Trentepohlia*.

Chave de identificação para as morfoespécies e variedades de *Printzina* e *Trentepohlia* encontrados nesse levantamento:

1. Organismos com sistemas ereto e prostrado diferenciados 2

1. Organismos com sistemas ereto e prostrado não diferenciados 9

2. Filamentos eretos e afilados em direção ao ápice 3

2. Filamentos eretos e não afilados em direção ao ápice 4

3. Filamentos formando película fina, geralmente amarelada ..... *Printzina* sp.1

3. Filamentos formando massa felpuda, geralmente verde ..... *Printzina* sp.2

4. Filamentos eretos não ramificados 5

4. Filamento eretos ramificados 6

5. Células do sistema prostrado arredondadas ou irregulares ..... Cf. *Printzina* sp.

5. Células do sistema prostrado cilíndricas ..... *T. depressa*

6. Células apicais sem espessamento 7

6. Células apicais com espessamento 8

7. Células apicais cônico-arredondadas, gametângio arredondados ..... *Printzina* sp.3

7. Células apicais lanceoladas, gametângios ovais ..... *T*. cf. *chapmanii*

8. Células do sistema prostrado arredondadas, em geral, maiores que 10µm diam. ..... *Trentepohlia* sp.2

8. Células do sistema prostrado elípticas a moniliformes, em geral, menores que 10µm diam. ..... *T. abietina* var. *tenue*

9. Massas crostosas 10

9. Massas felpudas 14

10. Filamentos curtos (com até nove células) ..... *T. umbrina*

10. Filamentos longos (com mais de 10 células) 11

11. Filamentos não ramificados ..... *T*. cf. *jolithus*

11. Filamentos ramificados 12

12. Células vegetativas com menos de 11µm diam.; ramificações abundantes e longas ..... *T. cf. rigidula*

12. Células vegetativas com menos de 11µm diam.; ramificações raras e curtas 13

13. Células vegetativas com mais de 20µm diam., ramificações curtas..... *T. diffracta*

13. Células vegetativas com menos de 20µm diam., ramificações longas....*T. odorata*

14. Filamentos com pelos unicelulares .....*T. peruana*

14. Filamentos sem pelos unicelulares 15

15. Gametângios com uma protuberância longa.....*P. lagenifera*

15. Gametângios sem uma protuberância longa.....16

16. Filamentos curtos e com células moniliformes ..... *T. monile*

16. Filamentos longos e com células cilíndricas ou sem forma definida.....17

17. Parede celular colorida .....*Trentepohlia* sp.1

17. Parede celular hialina 18

18. Células vegetativas com menos de 13µm diam. 19

18. Células vegetativas com mais de 13µm diam. 20

19. Filamentos orientados na mesma direção; ramificações raras.....*T.* cf*. dusenii*

19. Filamentos emaranhados; ramificações abundantes ..... *T. abietina*

20. Esporângios solitários.....*T. aurea*

20. Esporângios em grupos 2-5.....*T. arborum*

Printzina lagenifera (Hildebrand) Thompson & Wujek, Journal of Phycology 28: 232-237, 1992.

(Figs. 1-3)

Filamentos formando pequenas massas distintas, alaranjadas; talos sem diferenciação entre os sistemas prostrado e ereto. Filamentos curtos, 3-10 células, não afilado no ápice; ramificações raras ou ausentes; cloroplastos parietais; célula apical indistinta; células moniliformes a quase cilíndricas, 7,0-10,0µm diam., (8,5-)10,7-13,3µm compr., RC/L (0,8-)1,3-1,7. Gametângios isolados, ovais, com um protuberância proeminente que termina no poro, laterais ou intercalares, algumas vezes com (13,0-)14,7-16,0(-17,6)µm diam., (16,0-)17,1-21,3µm compr., RC/L 1,1-1,3. Esporângios não observados.

Ocorrência: PNI

Comentários: A população de *Printzina lagenifera* foi encontrada na região de campos de altitude e os espécimes revelaram características morfológicas correspondentes àquelas apresentadas por Printz (1939) e por Thompson & Wujek (1992).

Printzina lagenifera constitui uma espécie bem distribuída em regiões tropicais, sendo registrada para a Austrália (CRIBB, 1963, 1968), Tasmânia (CRIBB, 1989), Havaí (RINDI et al., 2005), África (RINDI et al., 2006), Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008) e Panamá (RINDI et al., 2008). Essa espécie também foi encontrada em ambientes urbanos na Irlanda por Rindi & Guiry (2002, 2003).

Thompson & Wujek (1992) propuseram o gênero *Printzina* a partir da separação de nove espécies de *Trentepohlia*. *Printzina* caracteriza-se pela presença de esporângios globulares a reniformes e pela presença de um sistema prostrado pseuparenquimatoso bem desenvolvido, enquanto *Trentepohlia* possui esporângios ovais e um sistema prostrado pouco desenvolvido ou ausente. As características propostas para a separação dos gêneros, entretanto, não possuem uma delimitação clara e tornam a diferenciação dos organismos confusa. Além das características morfológicas, análises moleculares também não suportam a separação dos dois gêneros (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006; RINDI et al., 2009b).

Printzina lagenifera foi designada como a espécie-tipo do gênero, entretanto uma das características que a diferencia de *Trentepohlia* é ausente, já que a espécie é descrita com sistemas prostrado e ereto indiferenciados. Apesar de vários estudos apontarem para a incerteza da validade do gênero *Printzina*, ainda nenhum estudo mais atual propôs formalmente a (re)transferência de suas espécies para *Trentepohlia*. Portanto, nesse estudo o nome *Printzina lagenifera* ainda será mantido, até que a taxonomia do grupo seja esclarecida.

Esse é o primeiro registro dessa espécie para o Brasil.

Printzina sp.1

(Figs 4-7)

Filamentos formando película fina, amarela; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células irregulares. Sistema ereto filamentoso, filamentos afilados em direção ao ápice; pouco ramificados; cloroplastos parietais; célula apical pontiaguda; células cilíndricas, (4,0-)6,4-8,0(-12,0)µm diam., (17,6-)21,6-40,0(-52,0)µm compr., RC/L 1,9-8,1. Esporângios isolados arredondados ou ovais, 12,0-20,0µm diam., (12,0-)16,0-20,0(-24,0)µm compr., RC/L 1,0-1,3. Gametângios raros, intercalares, arredondados, 10,8µm de diam..

Ocorrência: PNI.

Comentários: A combinação de características morfológicas e métricas observada nos espécimes estudados não corresponde a nenhuma espécie de *Printzina* descrita na literatura. Esses organismos apresentaram semelhança com organismos encontrados no Panamá, por Rindi et al. (2008), no entanto, os autores não concluíram a identificação do táxon, o qual acreditam ser uma nova espécie de Trentepohliales.

Printzina sp.2

(Figs. 8-10)

Filamentos formando massa felpuda, verde; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células arredondadas ou irregulares, 6,4-12,8µm diam. Sistema ereto filamentoso, filamentos afilados em direção ao ápice; ramificações abundantes; cloroplastos parietais; célula apical cônico-arredondada a pontiaguda; células cilíndricas, (12,0-)14,4-16,0(-19,2)µm diam., (28,8)38,4-40,0(-57,6)µm compr., RC/L (1,8-)2,4-2,7(-3,3). Esporângios isolados ou em grupos de 2-5, arredondados, laterais ou apicais, 13,6-22,4µm diam. Gametângios não observados.

Ocorrência: PNI.

Comentários: A população foi encontrada crescendo sobre rocha, em região de floresta ombrófila densa. Os organismos apresentaram morfologia semelhante à *P. effusa,* no entanto, algumas diferenças foram observadas entre a população estudada e as descrições encontradas na literatura. Rindi et al. (2005) notaram morfologia diferente para as gerações gametofíticas e esporofíticas nas populações do Havaí, sendo a última desprovida de sistema prostrado diferenciado do ereto e as regiões apicais não atenuadas, como na geração gametofítica. Os espécimes encontrados na Guiana Francesa, por Rindi & López-Bautista (2008), não mostraram tal diferenciação entre as gerações gametofíticas e esporofíticas. *Printzina effusa* foi registrada para o Brasil por Lemes-da-Silva et al. (2010), sendo que somente espécimes com gametângios foram observados. Nesse estudo, foram observados somente organismos possuindo esporângios e as características morfológicas foram correspondentes àquelas de *P. effusa*, mas nessa população, as medidas de diâmetro celular são maiores que as encontradas na literatura.

Considerando que pode existir sobreposição nas características utilizadas para separar os gêneros *Trentepohlia* e *Printzina*, a população observada pode ainda se assemelhar com *T. arborum*, devido à características das células vegetativas, no entanto, o arranjo dos esporângios diferem entre elas, o que também impossibilita a identificação da população como *T. arborum*.

Printzina sp.3

(Figs. 11-13)

Filamentos formando massa felpuda, como tapete, alaranjada; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células irregulares, 7,2-12,8µm diam. Sistema ereto filamentoso, filamentos longos, não afilados em direção ao ápice; ramificações abundantes, longas; cloroplastos parietais; célula apical cônico-arredondada; células moniliformes, cilíndricas ou irregulares 6,4-8,8µm diam., (8,0-)10,4-16,0µm compr., RC/L 1,2-2,5. Gametângios isolados

arredondados, laterais, 15,2-17,6µm diam., 16,0µm compr. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM e FFPN.

Comentários: Os organismos descritos acima não apresentaram similaridade com os táxons descrito até o momento. As características da massa, formando um tapete juntamente com a forma e o tamanho das células faz com que essas populações não se assemelhem às espécies já descritas. A indicação dessas populações para o gênero *Printzina* foi devido a diferenciação de sistemas eretos e prostrados. Nenhuma identificação foi proposta para essas populações, as quais devem tratar-se de uma nova para a ciência.

cf. *Printzina* sp.

(Figs. 14-16)

Filamentos formando massa crostosa, amarela a verde; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células arredondadas ou irregulares, 7,2-12,0µm diam., 8,0-15,2 µm compr., RC/L 1,0-2,1. Sistema ereto filamentoso, filamentos curtos, 3-5 células, não afilados em direção ao ápice; não ramificados; cloroplastos não observados; célula apical irregular; células cilíndricas, 4,8-6,4(-7,2)µm diam., (11,2-)16,0-20,8(-23,2)µm compr., RC/L 2,0-3,3(-5,0). Gametângios e esporângios não observados.

Ocorrência: PNI.

Comentários: A população descrita foi identificada como *Printzina*, principalmente, pelo sistema prostrado ser bastante desenvolvido, porém o uso dessa característica para a diferenciação de gêneros em Trentepohliales ainda é bastante controversa (ver discussão em *P. effusa*). Os espécimes analisados não apresentaram semelhança morfométrica com nenhuma espécie de *Printzina* descrita. A população encontrada nesse estudo é pequena, sendo que mais espécimes precisam ser estudados e,

principalmente, as estruturas de reprodução precisam ser observadas para que se possa concluir a identificação da população.

Trentepohlia abietina var. *abietina* (Flotow) Hansgirg, Prodromus der algenflora von Böhmen. 1: 86, 1886.

(Figs. 17-19)

Filamentos formando massa algodoada, alaranjada; talo não diferenciado em sistemas prostrado e ereto. Filamentos longos, não afilados no ápice; ramificações abundantes, geralmente em 90º; cloroplastos parietais; células apicais cônico-arredondada; células cilíndricas, (6,8-)8,8-11,0(-12,0)µm diam., (12,0-)18,4-26,0(-29,6)µm compr., RC/L (1,5-)2,0-3,0(-3,2). Gametângios arredondados, isolados, laterais ou apicais, com ou sem pedúnculo, 17,6-36,0µm diam., 13,6-36,0µm compr., RC/L 0,8-1,1. Esporângio isolado, arredondado, 21,6µm diam.,19,2µm compr., RC/L 1,1.

Ocorrência: PESM, PNI, RCJ e FFNP

Comentários: As populações foram encontradas em vários tipos de biomas, incluindo área de floresta ombrófila densa e mista e floresta estacional semidecidual. A morfologia apresentada por esses organismos foi semelhante à descrita por Printz (1939) e Ettl & Gärtner (1995), embora as faixas de medidas celulares tenham sido um pouco maiores que as apresentadas nesses trabalhos (4,0-10,0µm diam., PRINTZ, 1939; ETTL & GÄRTNER, 1995). Nos organismos observados, foi encontrado apenas um esporângio, já os gametângios foram estruturas reprodutivas mais abundantes.

A variedade-tipo dessa espécie já foi registrada para o Brasil por Akiyama (1971), provavelmente na área do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, SP. Mais recentemente, foi também encontrada por Lemes-da-Silva et al. (2010) no interior de fragmentos de floresta estacional semidecidual, no noroeste do estado de São Paulo, sobre troncos de árvores e com medidas celulares inferiores (6,7-8,3µm de diam.).

Trentepohlia abietina é uma das espécies geograficamente mais bem distribuídas do gênero, sendo reportada para muitos ambientes de regiões temperadas e tropicais (JOSE & CHOWDARY, 1980; TRACANNA, 1989; ETTL & GÄRTNER, 1995; JOHN, 2002; RINDI et al., 2005). Há ocorrências registradas para essa espécie em *habitats* urbanos na região ocidental da Irlanda (RINDI & GUIRY, 2002), ilhas havaianas (RINDI et al., 2005), África do Sul (RINDI et al., 2006), Guiana Francesa (RINDI & LOPEZ-BAUTISTA, 2008) e Panamá (RINDI et al., 2008).

Trentepohlia abietina (Flotow) Hansgirg var. *tenue* (Zeller) Cribb, Proceedings of the Royal Society of Queensland 82(2): 21, 1970.

(Figs. 20-21)

Filamentos formando pequenas massas arredondadas, alaranjadas; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células elipsoides a moniliformes, 7,2-8,8(-9,6)µm diam., 7,2-8,8(-11,2)µm compr., RC/L 0,9-1,3. Sistema ereto filamentoso, filamentos não afilados no ápice, ramificações raras; cloroplastos indistintos; células apicais cônico-arredondadas com espessamento; células cilíndricas a elípticas, (4,0-)4,8-6,4(-10,0)µm diam., (11,2-)15,2-16,0(-26,4)µm compr., RC/L (1,5)2,0-4,3; gametângios isolados, arredondados, laterais, 8,8-11,2µm diam., 8,8-11,2µm compr., RC/L 1,0; esporângios não observados.

Ocorrência: PESM, RCJ e PNSC.

Comentários: Foram encontradas três populações de *T. abietina* var. *tenue* em troncos de árvores em região de restinga, floresta ombrófila mista e cerrado. Os organismos dessa variedade caracterizam-se e diferem da variedade-tipo por apresentarem espessamentos bem desenvolvidos na parede da maioria das células apicais e rugosidades nas paredes celulares.

Essa variedade foi encontrada em Queensland por Cribb (1958, 1963), como *T. abietina* f. *crassisepta*, sinonomizadas por Cribb (1970), como *T. abietina* var. *tenue*.

Rindi & López-Bautista (2008) registraram a ocorrência desse táxon em florestas tropicais no Panamá.

Este constitui o primeiro registro da variedade para o Brasil.

Trentepohlia arborum (Agardh) Hariot, Journal de Botanique 3: 383, 1889.

(Figs. 22-23)

Filamentos formando massas algodoadas, alaranjadas ou verdes; talos não diferenciados em sistemas prostrados e eretos. Filamentos longos, não afilados no ápice; ramificações abundantes, em ângulo de 90°; cloroplastos discoides; células apicais cônico-arredondadas a obtusas; células cilíndricas, (12,8-)14,4-16,0(-21,6)µm diam., (32,0-)40,0-44,0(-67,2)µm, RC/L 2,3-3,5. Gametângios isolados, laterais, arredondados, (25,6-)31,2-47,2µm diam., (25,6-)31,2-47,2µm compr., RC/L 0,9-1,3. Esporângios isolados ou em grupos de 2-5, ovais ou reniformes, (17,6-)20,0-24,0(28,0)µm diam., (20,8-)32,8-35,6µm compr., RC/L 0,9-1,5.

Ocorrência: PESM, PNI e PNSC.

Comentários: *Trentepohlia arborum* foi a espécie mais frequente e abundante, especialmente em áreas de Mata Atlantica, sendo encontradas 24 populações em áreas de restinga, floresta ombrófila e cerrado. A morfologia apresentada por esses organismos é semelhante à descrita por Printz (1939).

Lemes-da-Silva et al. (2010) encontraram essa espécie em fragmentos florestais no noroeste do estado de São Paulo e os espécimes agora estudados possuem características morfológicas e métricas coincidentes àquelas descritas no trabalho acima citado. *Trentepohlia arborum* também foi encontrada no Brasil por Akiyama (1971) e Bicudo & Santos (2001).

Trentepohlia arborum é uma espécie amplamente distribuída em região tropical, com ocorrência registrada para Austrália (CRIBB, 1958), Java e Bali (CRIBB, 1987), Tasmânia (CRIBB, 1989), Havaí (RINDI et al., 2005), Guiana Francesa (RINDI, & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008) e Panamá (RINDI et al., 2008).

Trentepohlia aurea (Linnaeus) Martius, Flora cryptogamica erlangensis sistens vegetabilia e classe ultima Linn. in agro erlangesi hucusque detecta 1: 351, 1817.

(Figs 24-25)

Filamentos formando massas algodoadas, alaranjadas ou verdes; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos longos, não afilados no ápice; ramificações abundantes, em ângulo de 90° ou menores, alguns ramos com células arredondadas; cloroplastos parietais; células apicais cônico-arredondadas; células cilíndricas, (14,4-)16,0-19,2(-27,2)µm diam., (28,0-)31,2-40,8(-52,0)µm compr., RC/L (1,7-)1,9-2,5(-2,8). Gametângios isolados ou em duplas, laterais, arredondados, 28,0-37,4µm diam., 24,0-32,0µm compr., RC/L 0,8-1,0, opérculo em posição lateral. Esporângios isolados, ovais ou reniformes, (17,6-)20,0-24,0(28,0)µm diam., (20,8-)32,8-35,6µm compr., RC/L 0,9-1,5.

Ocorrência: PNI, RCJ, FFNP e PNSC.

Comentários: As populações de *T. aurea* encontradas nas áreas amostradas foram congruentes com as descrições e ilustrações de Printz (1920, 1939) e Ettl & Gärtner (1995). Esse constitui o quarto registro da espécie para o território brasileiro, sendo anteriormente citada por Akiyama (1971), Bicudo & Santos (2001) e Lemes-da-Silva et al. (2010).

Além das populações encontradas no Brasil, a literatura apresenta diversos registros de *T. aurea*, principalmente para regiões tropicais: Papua Nova Guiné (CRIBB, 1968), Tasmânia (CRIBB, 1989) e Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008).

Trentepohlia cf. *chapmanii* Rindi & López-Bautista, Phycologia 46: 699, 2007.

(Figs. 26-28)

Filamentos formando película amarelada; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, células irregulares, 8,0-11,0µm

diam., (8,0-)10,0-12,8(-16,8)µm compr. Sistema ereto filamentoso, filamentos longos, não afilados no ápice; poucas ramificações; cloroplastos não visíveis; células apicais lanceoladas; células cilíndricas a elípticas, 4,0-6,4(-7,2)µm diam., (8,8-)10,4-12,8(-15,2)µm compr., RC/L 1,8-2,5(-3,0). Gametângios ovais, laterais ou apicais, 12,0-17,0µm diam., 14,4-21,6µm compr., RC/L 1,0-1,7. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: A população descrita foi encontrada crescendo em poste metálico, em área aberta, próxima à floresta ombrófila. A morfologia geral apresentada por esses organismos é coincidente com aquela descrita por Rindi & López-Bautista (2007), porém os ramos eretos são mais longos que o material original, encontrado na Guiana Francesa. È aconselhável a realização de outros estudos, como p. ex., análises moleculares com as duas populações (a proveniente da Guiana Francesa e a desse estudo) para a conclusão definitiva da identificação (F. RINDI, comunicação pessoal). Se confirmada a identidade da população, esse constituirá o primeiro registro para o Brasil e o segundo registro mundial da espécie, que foi descrita por Rindi & López-Bautista (2007), a partir de espécimes encontrados em área de floresta tropical na Guiana Francesa.

Trentepohlia depressa (Müller Arg.) Hariot Journal de Botanique 4: 52, 1890.

(Figs. 29-30)

Filamentos formando pequenas massas arredondadas, alaranjadas; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, ramificações dicotômicas, células cilíndricas, 5,0-6,0µm diam., (12,0-)15,0-17,0µm compr., RC/L 2,5-3,0; células apicais cônico-arredondadas. Sistema ereto filamentoso, filamentos não afilados no ápice, não ramificados; cloroplastos indistintos; células apicais afiladas; células cilíndricas, 2,4-4,0µm diam., (8,0-)10,4-12,0(-14,4)µm compr., RC/L 2,6-4,0. Gametângios formados na base de

filamentos do sistema ereto, isolados, elípticos, 11,2-13,6µm diam., 16,0-21,6µm compr., RC/L 1,2-1,9. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: As populações encontradas possuem morfologia correspondente às descrições de Printz (1939) e Rindi et al. (2008), embora o sistema prostrado mostre filamentos com diâmetros menores. A espécie é conhecida para Brasil, reportada como na descrição original (MÜLLER ARGOVIENSIS, 1882). *T. depressa* também foi encontrada no Panamá por Rindi et al. (2008).

Trentepohlia diffracta (Krempelhüber) Hariot, Journal de Botaniques 3: 396, 1889.

(Figs 31-33)

Filamentos formando massas crostosas, alaranjadas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos longos, não afilados no ápice; ramificações curtas, 1-3 células; cloroplastos parietais; células apicais cônico-arredondadas; células cilíndricas a elípticas, (20,8-)22,0-25,0(-26,7)µm diam., (26,1-)33,6-34,6(-38,9)µm compr., RC/L (1,4-)1,6(-3,0). Gametângios arredondados, isolados, apicais 30,2-45,3µm diam., 33,1-53,3µm compr., RC/L 0,9-1,1. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: Foram encontradas duas populações de *T. diffracta,* em regiões de borda de floresta ombrófila densa, e as características morfológicas são sobrepostas àquelas registradas por Akiyama (1971) e Lemes-da Silva et al. (2010), para populações brasileiras. Os espécimes observados por Lemes-da-Silva et al. (2010) possuem medidas maiores que as encontradas nesse estudo, no entanto, a morfologia geral é compartilhada entre os organismos. Além das populações encontradas no Brasil, *T. diffracta* também foi encontrada em regiões de florestas tropicais na Guiana Francesa, por Rindi & López-Bautista (2007).

Trentepohlia cf. *dusenii* (Wittrock & Nordstedt) Hariot, Botaniska Notiser 185: 200, 1893.

(Figs 34-36)

Filamentos formando massas algodoadas, verdes; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos longos, orientados na mesma direção, não afilados no ápice; ramificações longas e raras, em ângulo de 90°; cloroplastos parietais; células apicais cônico-arredondadas; células cilíndricas, (7,2-)10,4(-12,8)µm diam., (13,6-)20,0(-28,0)µm compr., RC/L (1,4-)1,6(-3,0). Gametângios arredondados, 13,6µm diam., 16,0µm compr., RC/L 1,2. Esporângios arredondados, isolados, 16,0-20,0µm diam.

Ocorrência: RCJ.

Comentários: A morfologia dos espécimes encontrados em Campos do Jordão é correspondente à descrição da espécie na literatura, incluindo a morfometria das células vegetativas e as características do esporângio, no entanto, não foi observada, na população de Campos do Jordão, diferenciação entre os sistemas eretos e prostrados. *Trentepohlia dusenii* é bastante comum nos trópicos, existindo registros para a Austrália (CRIBB, 1963), Índia (JOSE & CHOWDARY, 1980), Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008), Panamá (RINDI et al., 2008) e Brasil (LEMES-DA-SILVA, 2010).

Trentepohlia cf. *jolithus* (Linnaeus) Wallroth, Flora Cryptogamica Germaniae 2: 151, 1833.

(Figs 37-39)

Filamentos formando massas crostosas, castanhas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto; filamentos longos, com mais de 10 células, não afilados no ápice; não ramificadas; cloroplastos parietais; células apicais elípticas; células elípticas, (6,0-)15,2(-20,0)µm diam., 32,0-40,0µm compr., RC/L (1,7-)2,0(-3,6). Gametângios e esporângios não observados.

Ocorrência: RCJ.

Comentários: Os organismos encontrados são morfologicamente semelhantes às descrições e ilustrações apresentadas por Printz (1939) e Ettl & Gärtner (1995), porém para maior confiabilidade na identificação, são necessárias análises de estruturas de reprodução.

Trentepohlia jolithus já foi registrada em regiões temperadas como Irlanda (RINDI & GUIRY, 2003) e França (RINDI et al., 2003) e para regiões tropicais, como Tasmânia (CRIBB, 1989) e Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008). A população encontrada nesse estudo, caso tenha sua identificação confirmada, constiturá o primeiro registro de ocorrência para o Brasil.

Trentepohlia monile De Wildeman, Bull. Soc. R. Bot. Belg. 27: 181, 1889.

(Figs 40-42)

Filamentos formando massas algodoadas, verdes; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos curtos com cerca de dez células, não afilados no ápice; ramificações abundantes, em ângulo de 90°; cloroplastos discoides; células apicais semelhantes às células vegetativas; células elípticas, (17,6-)19,2-23,2(-26,4)µm diam., (21,6-)28,0-33,6(-36,0)µm compr., RC/L (1,1-)1,2-1,6(-1,7). Esporângios isolados, arredondados, 24,0µm de diam. Gametângios não observados.

Ocorrência: FFNP.

Comentários: Este táxon foi descrito por De Wildeman (1888) e nomeado *Trentepohlia monile* e mais tarde como *T. moniliformis* por Karsten (1891). Em 1920, Printz transferiu a espécie para um novo gênero, *Physolinum*, criado para abriga-la e passando ser denominada *P. monile*. A proposição do gênero deveu-se, principalmente, à interpretação de Printz de que havia diferenças na forma de reprodução dos organismos dessa espécie, sendo *Physolinum* por meio de aplanósporos e *Trentepohlia*, por zoósporos. Flint (1959), entretanto, observou a produção de zoósporos em espécimes de *P. monile*, propondo então o retorno do

táxon ao gênero *Trentepohlia*, já que a principal característica utilizada para diferenciar os dois gêneros não sustentava a distinção.

Na população encontrada nesse trabalho, foram observados espécimes possuindo esporângio lateral (célula de suporte seguida por um esporângio), estrutura típica de Trentepohliales e raramente citada na literatura para *T. monile.* No presente estudo, referiu-se à espécie como pertencente ao gênero *Trentepohlia*, por concordar que as características apresentadas pelos organismos, incluindo a observação de esporângios laterais, são congruentes àquelas apresentadas na descrição do gênero. Alguns autores referem-se ao táxon como *T. monile*, como Akiyama (1971) e Ettl & Gätner (1995), enquanto outros referem-se como *P. monilia*, como Davis et al. (1989), Davis & Rands (1993) e Bicudo & Santos (2001).

O táxon, de fácil reconhecimento devido ao arranjo moniliforme de seus filamentos, foi registrado para o Brasil por Akiyama (1971), Bicudo & Santos (2001) e Lemes-Da-Silva et al. (2010).

Trentepohlia odorata (Wiggers) Wittrock, Enumeratur plantae scandinaviae 16: 85, 1880.

(Figs. 43-44)

Filamentos formando massas crostosas, alaranjadas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos não afilados no ápice; filamentos longos, mais de 10 células; ramificações abundantes, ramos longos; células cilíndricas a elípticas, quase moniliformes, (10,4-)12,0-16,0µm diam., (12,0-)17,6-20,8µm compr., RC/L 1,0-1,8; cloroplastos parietais; células apicais semelhantes às células vegetativas. Gametângios arredondados, 30,2-45,3µm diam., 33,1-53,3µm compr., RC/L 0,9-1,1. Esporângios não observados.

Ocorrência: PNI.

Comentários: Nas áreas de mata atlântica estudadas, foram encontradas três populações de *T. odorata,* todas elas em região de campos de altitude. A morfologia e

as medidas dos espécimes encontrados são correspondentes àquelas descritas por Printz (1939) e Ettl & Gärtner (1995).

Algumas espécies de *Trentepohlia*, como *T. odorata*, *T. jolithus* (Linnaeus) Wallroth e *T. umbrina* (Kützing) Bornet, possuem talos crostosos e morfologia celular semelhante. Entretanto tais espécies podem ser diferenciadas, principalmente, pelas medidas celulares e estruturas reprodutivas.

Trentepohlia odorata foi encontrada na Tasmânia (CRIBB, 1989) e na Austrália (CRIBB, 1963). Esta constitui a primeira citação da espécie para o Brasil.

Trentepohlia peruana (Kützing) Printz, Nytt Magasin f. Naturv. 80: 167, 1939.

(Figs. 45-46)

Filamentos emaranhados, crescendo em pequenos grupos, alaranjados; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos curtos, 4 a 10 células, não afilados no ápice, com pouca ou nenhuma ramificação; células elípticas a moniliformes, 6,4-10,0(-12,0)µm diam., (8,8-)11,2-14,4(-26,4)µm compr., RC/L 1,3-2,0; cloroplastos indistintos; células apicais semelhantes às células vegetativas; pelos unicelulares, não hialinos, crescendo na região mediana de algumas células. Gametângios isolados, apicais ou intercalares, ovais, 13,6-16,0µm diam., 12,8-16,0µm compr., RC/L 0,85-1,1. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: Foram encontradas duas populações de *T. peruana* na região de mata atlântica, uma em área de restinga, sobre tronco, e outra em área de floresta ombrófila, sobre o solo. Os gametângios foram encontrados apenas na população da área de restinga, entretanto, devido à coincidência dos caracteres morfológicos e métricos, conclui-se que a população da área de floresta ombrófila também seja pertencente à *T. peruana*.

Hariot (1890) propôs a distinção de espécies de *Trentepohlia* que possuíam pelos unicelulares em outro gênero, *Nylandera*, sendo que, até o momento, seis

espécies conhecidas de *Trentepohlia* possuem essa característica: *T. peruana*, *T. bogorienses* De Wildeman, *T. lagerheimii* De Wildeman (=*Printzina lagerheimii* (De Wildeman) Thompson & Wujek), *T. prolifera* De Wildeman, *T. tentaculata* (Hariot) De Wildeman e *T. willey* (Tiffany) Printz. Devido à ampla faixa de variação e polimorfismo entre essas espécies, Cribb (1970) agrupou quatro desses táxons (*T. bogorieneses*, *T. prolifera, T. tentaculata* e *T. peruana*), todos reconhecidos como *T. peruana.*

Trentepohlia peruana foi encontrada no Brasil por Akiyama (1971), com morfologia e medidas muito semelhantes às das populações encontradas nesse trabalho, porém, o autor também menciona a presença de células cilíndricas a elípticas, enquanto as populações da mata atlântica apresentaram filamentos com células elípticas a moniliformes.

Essa espécie também foi citada para áreas de floresta tropical na Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008) e no Panamá (RINDI et al., 2008).

Trentepohlia cf. *rigidula* (J.Müller) Hariot, Journal de Botanique 3: 403, 1889.

(Figs 47-49)

Filamentos formando pequenas massas crostosas, alaranjadas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos longos com mais de 10 células, não afilados no ápice; ramificações raras, curtas; cloroplastos parietais; células apicais cônico-arredondadas, algumas com espessamento; parede celulares com ornamentações; células elípticas, 6,4-8,0(-10,4)µm diam., 13,6-16,0µm compr., RC/L (1,5-)2,0-2,2(-2,6); gametângios isolados, laterais, arredondados, 12,0-15,2µm diam., 13,6-18,4µm compr., RC/L 1,0-1,3, opérculo em posição apical; esporângios não observados.

Ocorrência: PNSC.

Comentários: Os organismos descritos possuem morfologia semelhante à encontrada na literatura para *T. rigidula*. No entanto, esses organismos mostraram medidas celulares menores que as descrições, o que impossibilita a identificação precisa dessa

população. Cribb (1970) e Rindi et al. (2008) apresentam *T. rigidula* como sinônimo de *T. monile*, pois consideram que essas espécies não possuem características morfológicas que justifiquem essa separação. Nesse estudo, consideramos *T. rigidula* e *T. monile* como espécies distintas, principalmente devido às características da massa, já que *T. rigidula* pssui características crostosas, enquanto *T. monile* apresenta-se como massa algodoada, além disso, possuem diferenças na estrutura do filamento (*T. rigidula* possui filamentos mais longos e *T. monile* possui filamentos curtos) e da parede celular (*T. rigidula* possui ornamentações na parede celular, diferente de *T. monile*). Esse é o primeiro registro da espécie para o Brasil, caso confirmada a identificação.

Trentepohlia umbrina (Kützing) Bornet, Annales Sciences Naturelles, Botanique 17: 54, 1873.

(Figs 50-51)

Filamentos formando massas crostosas, alaranjadas a avermelhadas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Filamentos curtos com até cinco células, não afilados no ápice; ramificações raras, com apenas uma célula; cloroplastos parietais; células apicais semelhantes às células vegetativas; células arredondadas a elípticas, (9,6-)10,4-20,0µm diam., (14,4-)16,0-20,0(-21,6)µm compr., RC/L (0,8-)1,0-1,5(-1,8). Esporângios arredondados, 20,0µm diam. Gametângios não observados.

Ocorrência: PNSC.

Comentários: As populações observadas foram encontradas crescendo em troncos de árvores. Esses organismos possuem características morfométricas que estão de acordo com as descrições apresentadas por Printz (1920, 1939) e Ettl & Gärtner (1995).

Trentepohlia umbrina é amplamente distribuída no globo, possuindo vários registros, principalmente, para regiões tropicais. Esse táxon foi encontrado na Tasmânia (como *T. odorata* var. *umbrina*) por Cribb (1989), na Irlanda, por Rindi &

Guiry (2002, 2003), na França, por Rindi et al. (2003), no Havaí, por Rindi et al. (2005), na África, por Rindi et al. (2006), na Guiana Francesa, por Rindi & López-Bautista (2008), e no Panamá, por Rindi et al. (2008).

Esse constitui o primeiro registro da espécie para o Brasil.

Trentepohlia sp.1

(Figs. 52-54)

Filamentos formando massas algodoadas, marrons a castanhas; talos não diferenciados em sistemas prostrado e eretos. Filamentos longos, não afilados no ápice; ramificações abundantes, longos, em ângulo de 90º; cloroplastos esféricos; parede celular espessa, amarela a marrom; células apicais cônico-arredondada; células cilíndricas, (12,8-)13,6-15,2µm diam., (20,8-)24,8-28,0(-31,2)µm compr., RC/L 1,7-2,0. Gametângios arredondados, 16,0-20,8µm diam., 13,6-21,6µm compr., RC/L 0,8-1,1. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM, PNI, RCJ, FFNP e PNSC.

Comentários: Nas regiões estudadas, foram encontradas várias populações, em áreas de floresta ombrófila densa, floresta ombrófila mista, floresta estacional semidecidual e cerrado, sendo esse um dos morfotipos mais bem distribuídos nas regiões estudas. Espécimes com morfometria semelhante foram registrada por RINDI et al. (2008), em áreas de floresta tropical no Panamá, sendo que características diacríticas como a parede celular colorida, em geral marrom, e os plasmodesmos bastante evidentes são compartilhadas com as populações encontradas nesse estudo. RINDI et al. (2008) não propuseram uma identificação para esses organismos, apenas ressaltaram a semelhança com *Printzina luteofusca,* em especial, a coloração da parede celular. No entanto, em ambos os estudos (Rindi et al., 2008 e o presente estudo), os organismos observados não possuiam estruturas em espiral na parede das células e células apicais infladas, características diagnósticas de *P. luteofusca* (RINDI

et al., 2008). Considerando essas informações, é possível que essas populações refiram-se a uma nova espécie de *Trentepohlia*.

Trentepohlia sp.2

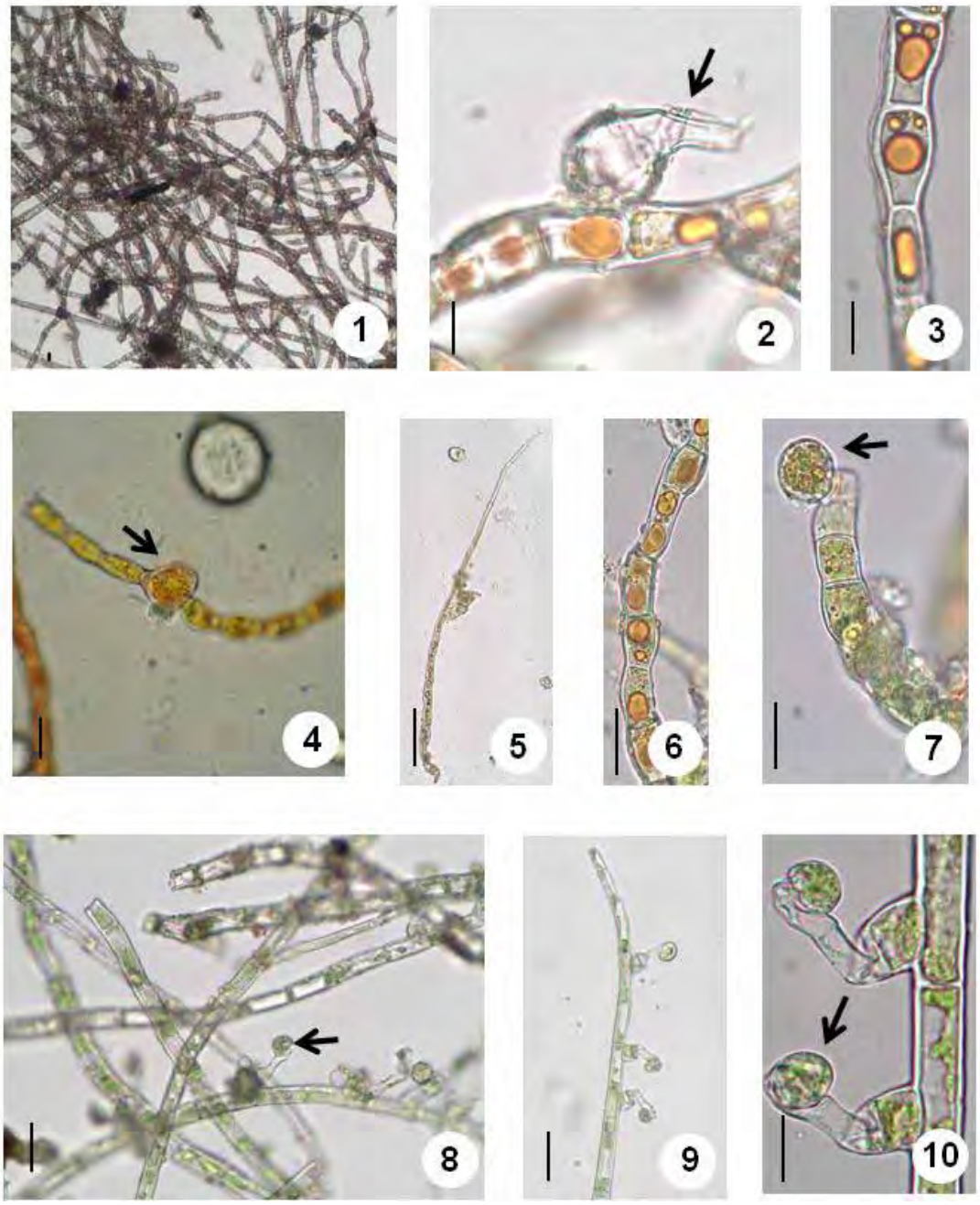
(Figs. 55-57)

Filamentos formando pequenas massas, alaranjadas; talos diferenciados em sistemas prostrado e ereto. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso; células arredondadas, (8,8-)10,4-12,0(-15,2)µm diam., (8,8-)10,4-12,0(-14,4)µm compr., RC/L 0,9-1,1. Sistema ereto filamentoso; filamentos curtos com 3-5 células, não afilados; ramificações ausentes; cloroplastos parietais; célula apical com espessamento; células cilíndricas, 2,4-4,0µm diam., 10,4-25,6µm compr., RC/L 3,2-7,2. Gametângios e esporângios não observados.

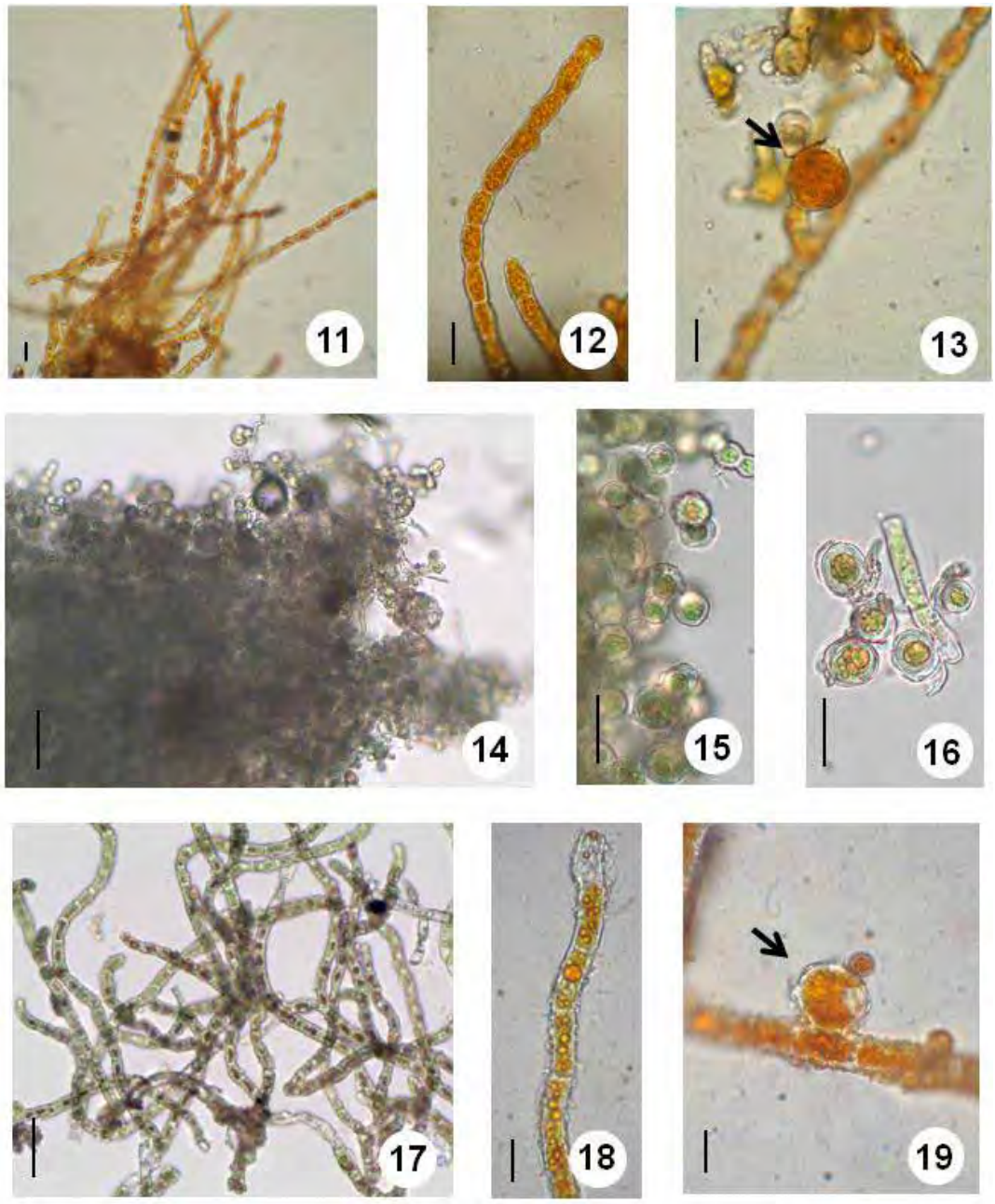
Ocorrência: PESM.

Comentários: Essa população foi encontrada em área de floresta ombrófila, sobre tronco de palmeira. Os organismos apresentaram características morfológicas similares às de *T. willei* (Tiffany) Printz*,* entretanto mostraram medidas das células do sistema prostrado maiores (5,0-10,0µm diam. e 6,0-8,0µm compr. em *T. willei*; PRINTZ, 1939).

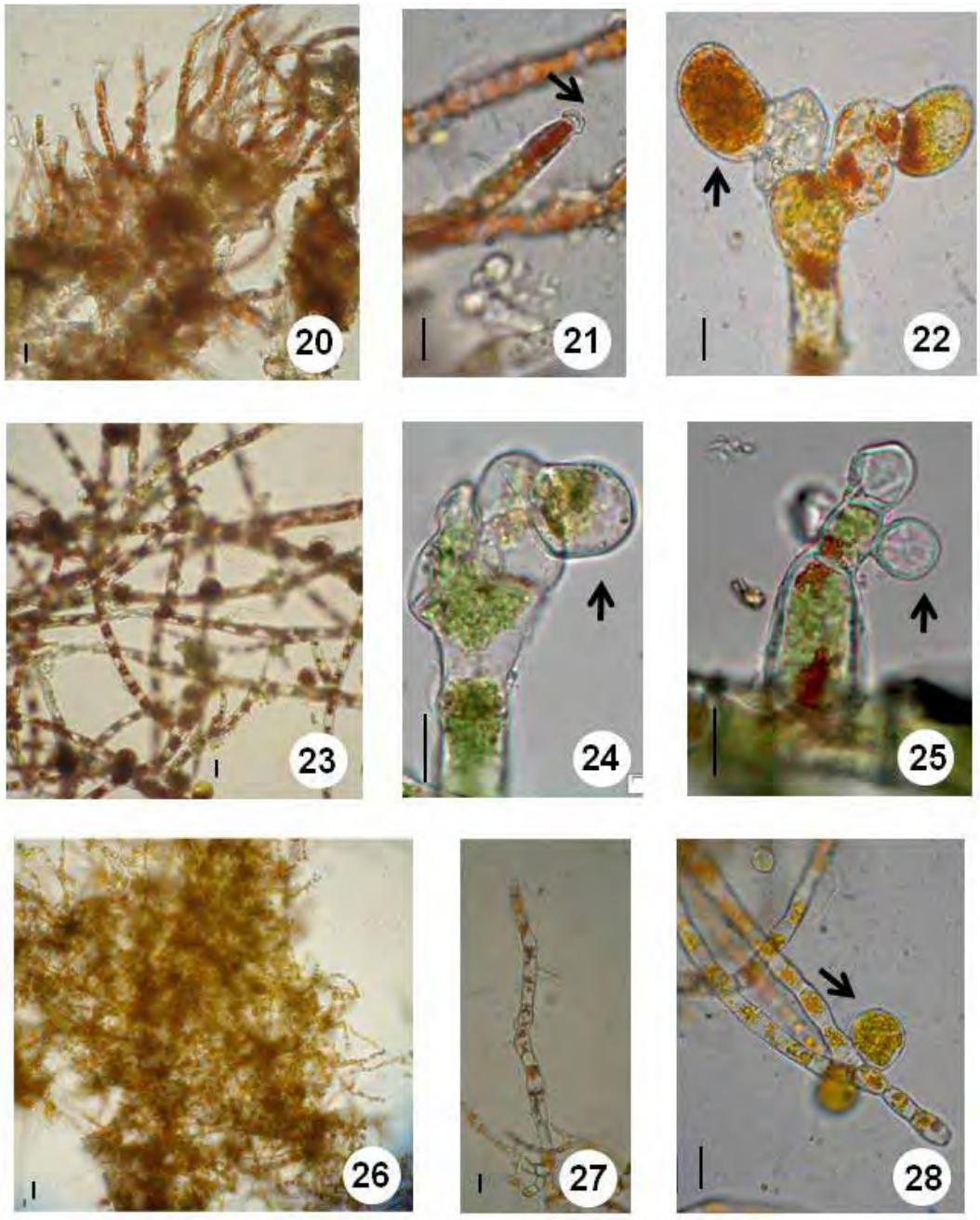
Considerando que a população observada apresentou alguma similaridade com uma espécie do gênero *Trentepohlia*, decidiu-se por manter essa identificação genérica. Ainda assim, o conjunto de características morfológicas e métricas apresentadas por *Trentepohlia* sp.2 não é plenamente correspondente ao de nenhuma espécie descrita na literatura. Além disso, nos espécimes analisados não foram observados estruturas de reprodução, o que compromete a identificação taxonômica desses organismos.



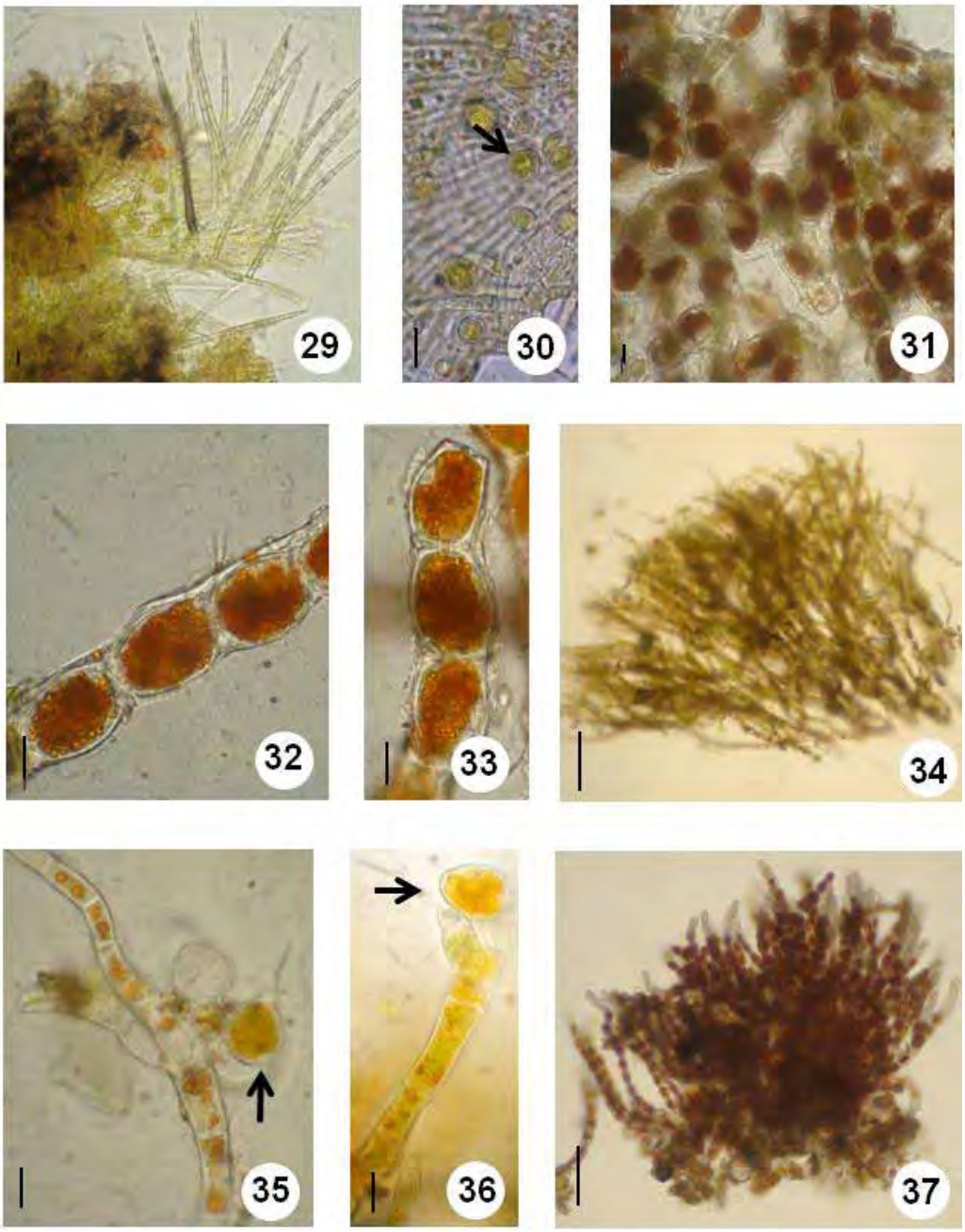
Figuras 1-10. 1-3. *P. lagenifera*; 2. Seta = gametângio. 4-7. *Printzina* sp.1; 4. Seta = gametângio; 7. Seta = esporângio. 8-10. *Printzina* sp.2; 8. Seta = esporângio; 10. Seta = esporângio (Escalas = 10µm).



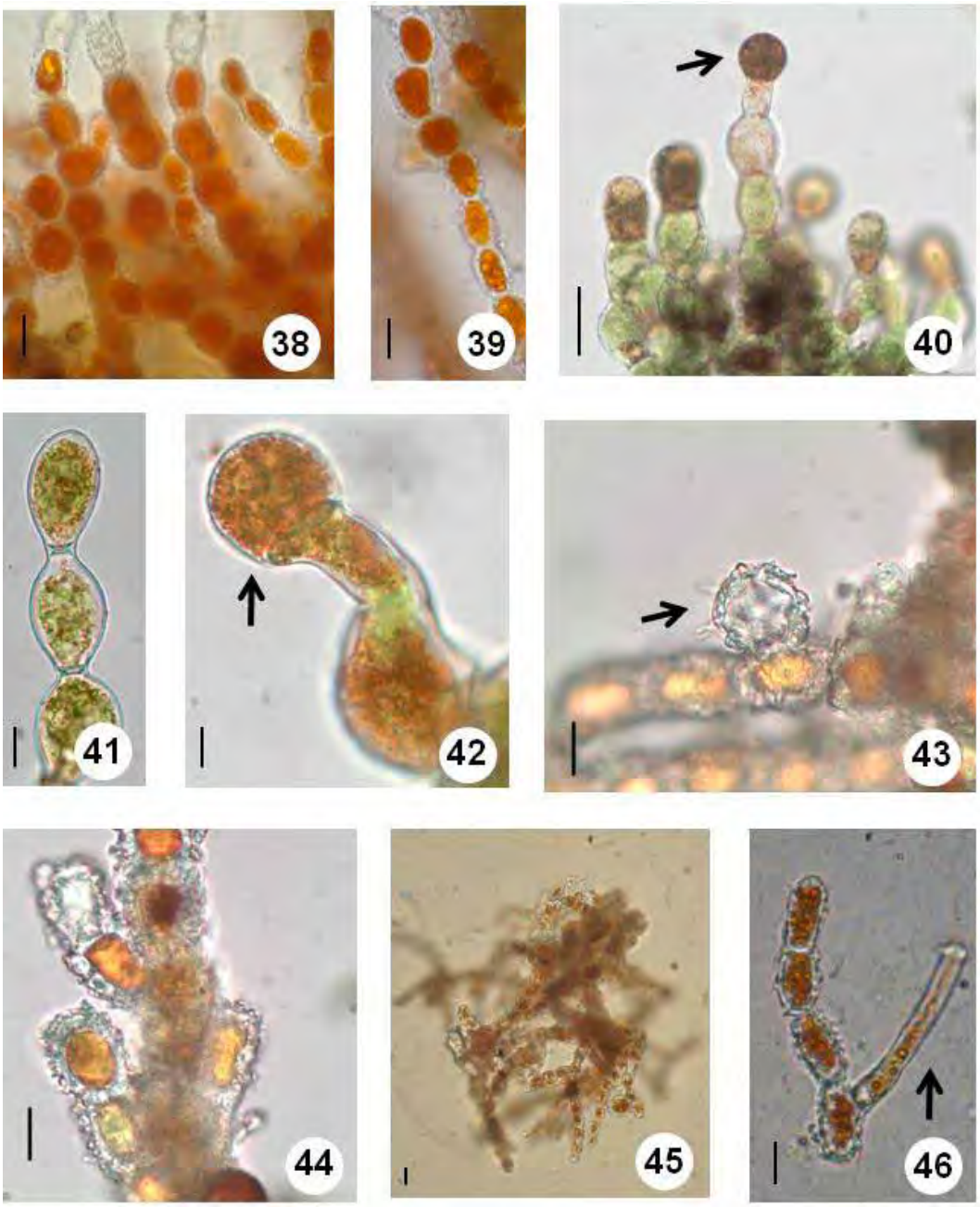
Figuras 11-19. 11-13. *Printzina* sp.3; 13. Seta = gametângio. 14-16. Cf. *Printzina* sp. 17-19. *T. abietina* var. *abietina*; 19. Seta = gametângio (Escalas = 10µm).



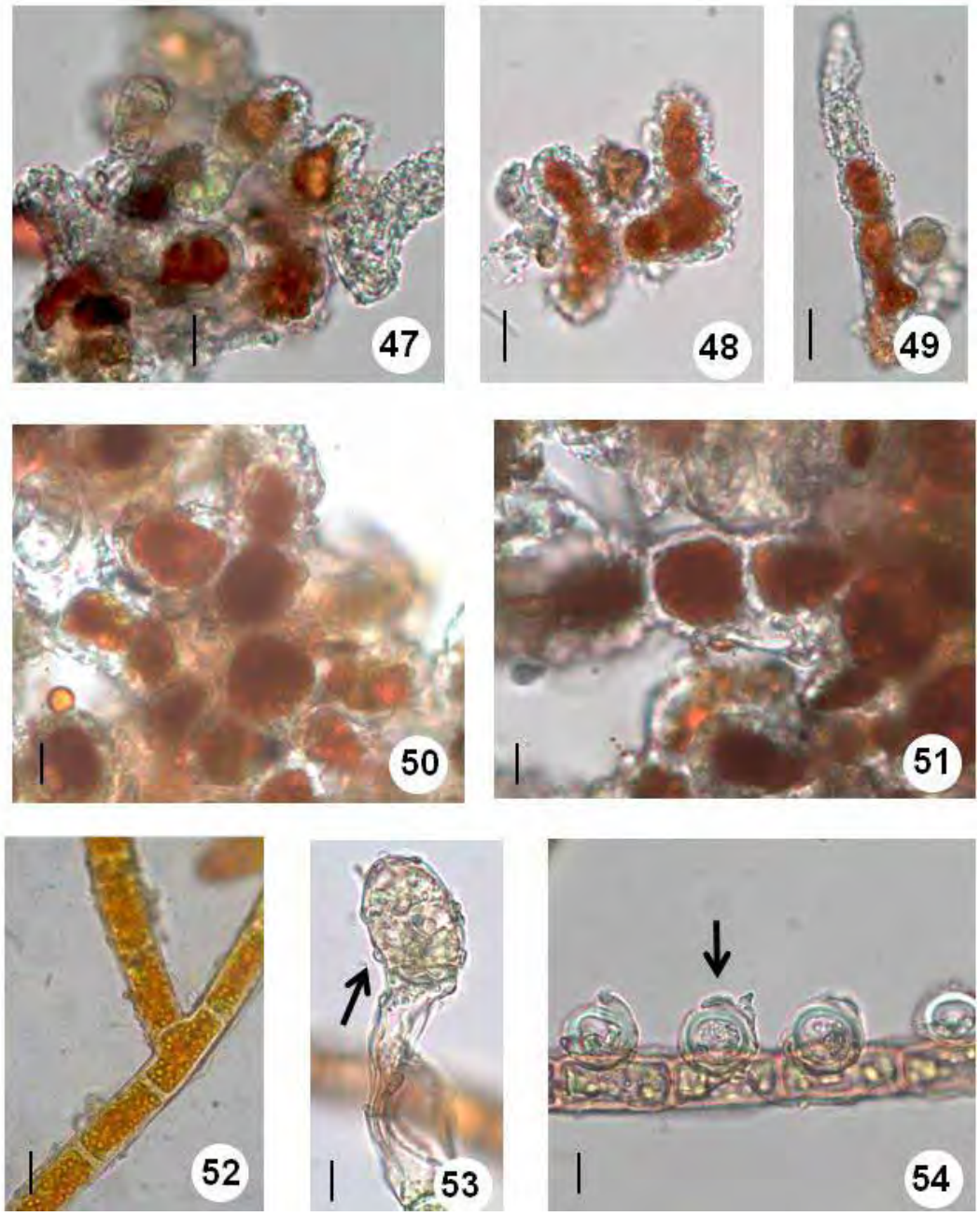
Figuras 20-28. 20-21. *T. abietina* var. *tenue*; 21. Seta = espessamento apical. 22-23. *T. arborum;* 22. Seta = esporângio.. 24-25. *T. aurea;* 24. Seta = esporângio; 25. Seta = células arredondadas. 29-28. *T.* cf. *chapmanii*; 28. Seta = gametângio (Escalas = 10µm).



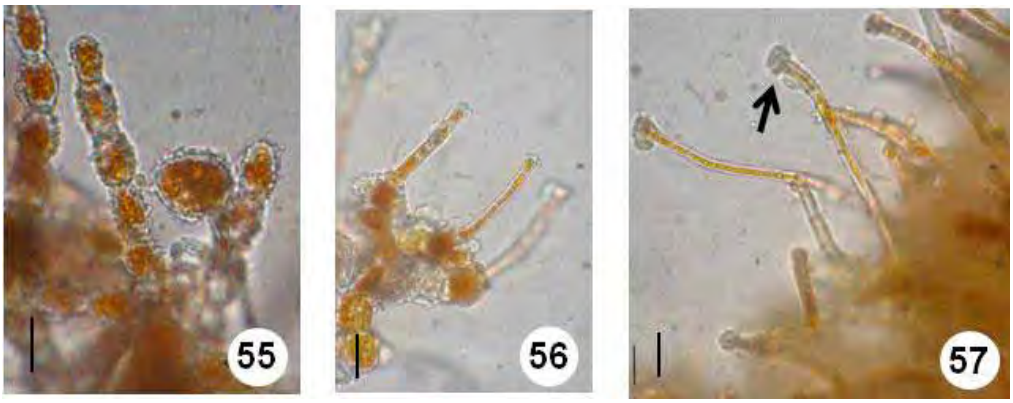
Figuras 29-37. 29-30. *T. depressa*; 30. Seta = gametângio. 31-33. *T. diffracta*. 34-36. 35. Seta = gametângio; 36. Seta = esporângio. 37. *T.* cf. *iolithus* (Escalas = 10µm).



Figuras 38-46. 38-39. *T.* cf. *iolithus*. 40-42. *T. monile;* 40. Seta = esporângio; 42. Seta = esporângio. 43-44. *T. odorata;* 43. Seta = gametângio. 45-46. *T. peruana;* 46. Seta = pelo. (Escalas = 10µm).



Figuras 47-54. 47-49. *T.* cf. *rigidula*. 50-51. *T. cf. umbrina.* 52-54. *Trentepohlia* sp.1; 53. Seta = esporângio; 54. Seta = gametângio. (Escalas = 10µm).



Figuras 55-57. *Trentepohlia* sp.2; 57. Seta = espessamento apical. (Escalas = 10µm).

5. Discussão

Como esperado, esse levantamento revelou uma flora diversa de Trentepohliales filamentosas (20 espécies e uma variedade) nos biomas amostradas, incluindo oito novas ocorrências (*Printzina lagenifera*, *Trentepohlia abietina* var. *tenue*, *T.* cf. *chapmanii*, *T. depressa*, *T.* cf. *iolithus*, *T. odorata*, *T. peruana* e *T. umbrina*) e seis possíveis novos táxons (alguns daqueles que permanecem sem identificação). O número de citações de Trentepohliales filamentosas, anterior a esse estudo, era de dez espécies, sendo que, somente duas destas não foram observadas nesse levantamento (*T. calamicola* e *P. effusa).* Os resultados coincidem com levantamentos feitos em regiões tropicais e reiteram a informação de que, nesse locais, a flora de algas terrestres é rica, sendo esses organismos importantes componentes da microflora terrestre (López-Bautista et al., 2007).

A riqueza de espécies observada nesse trabalho é comparável àquelas encontradas em outras regiões tropicais, em especial, da América Central (RINDI et al., 2008) e do Sul (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008), embora a composição de espécies tenha se mostrado um pouco diferentes entre essas áreas. Um exemplo importante de mudança na composição de espécies é *Printzina bossae* (p. ex., RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008; RINDI et al., 2008), a qual representa um organismo bastante comum em ambientes tropicais e que foi registrada em todos os

levantamentos de Trentepohliales nessas regiões, porém não foi observada em nenhuma das áreas amostradas do Brasil, até o momento.

O grupo exposto possui ainda alguns problemas ainda não resolvidos pela taxonomia, como é o caso da validade da separação dos gêneros *Trentepohlia* e *Printzina* proposta por Thompson & Wujek (1992). Essa distinção foi baseada em critérios morfológicos e ecológicos não bem definidos, o que torna contestável a validade de *Printzina*. Estudos moleculares não confirmam a separação entre os dois gêneros e trabalhos morfológicos relatam a sobreposição de características morfológicas entre os dois gêneros e sugerem a extinção de *Printzina* e o retorno das espécies ao gênero *Trentepohlia* (p. ex., RINDI et al., 2009b). Apesar disso, os principais estudos taxonômicos do grupo ainda tratam esses organismos como gêneros distintos e a readequação para os organismos de gênero *Printzina* ainda não foi proposta.

Os levantamentos florísticos realizados para Trentepohliales, até o momento, registraram elevada riqueza de espécies de *Trentepohlia* e *Printzina* em regiões tropicais, sendo que os principais levantamentos foram feitos em regiões de florestas úmidas na Austrália (CRIBB, 1958, 1963, 1968, SARMA, 1986), Havaí (RINDI & GUIRY, 2002), Guina Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008) e Panamá (RINDI et al., 2008). No presente trabalho, áreas de florestas tropicais também foram identificadas como as mais ricas em espécies, o que pode ser justificado pela alta umidade encontrada nesses locais, o que é favorável ao desenvolvimento de algas terrestres (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

6. Referências bibliográficas

AKIYAMA, M. On some Brazilian species of Trentepohliaceae. **Memoirs of the Faculty of Education Shimane University. Natural Sciences**, v. 5, p. 81-95, 1971.

BICUDO, C.E.M.; SANTOS, C.I. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 15: Chlorophyceae (Trentepohliales). **Hoehnea**, v. 28, p. 183-190, 2001.

CHAPMAN, R.L.; WATERS, D.A. Lichenization of the Trentepohliales. In: SECKBACH, J. **Symbiosis**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 359-371, 2002.

CRIBB, A.B. The genus *Trentepohlia* in south-eastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 3, p. 193-201, 1958.

CRIBB, A.B. Further records of *Trentepohlia* from southeastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 4, p. 75-81, 1963.

CRIBB, A.B. Some Trentepohlias new to Australia. **Phykos**, v. 7, p. 3-8, 1968.

CRIBB, A.B. A revision of some species of *Trentepohlia* especially from Queensland. **Proceedings of the Royal Society of Queensland**, v. 82, 17-34, 1970.

CRIBB, A.B. Some species of *Trentepohlia* from Java and Bali. **Queensland Naturalist**, v. 27, p. 31-33, 1987.

CRIBB, A.B. The algal genus *Trentepohlia*. **Queensland Naturalist**, v. 29, p. 107-113, 1989.

DAVIS, J.S.; RANDS, D.G. Observations on lichenized and free−living *Physolinum* (Chlorophyta, Trentepohliaceae). **Journal of Phycology**, v. 29, p. 819-825, 1993.

DAVIS, J.S.; RANDS, D.G.; LACHAPELLE, M. Heavily lichenized *Physolinum* (Chlorophyta) from a dimly lit cave in Missouri. **Journal of Phycology**, v. 25, p. 419-428, 1989.

DE WILDEMAN, E. Observations sur quelques formes du genre *Trentepohlia* Mart. **Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique**, v. 27, p. 136-144, 1889.

ETTL, H.; GÄRTNER, G. **Syllabus der Boden-, Luft- and flechtenalgen**. Jena - New York: Gustav Fischer Verlag, 1995, 811 p.

FLINT, E.A. The occurrence of zoospores in *Physolinum* Printz. **New Phytologist**, v. 58, p. 267-270, 1959.

HARIOT, P. Note sur le genre *Cephaleuros*. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 3, p. 274-276, p. 284-288, 1889.

HARIOT, P. Notes sur le genre *Trentepohlia* Mart. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 4, p. 50-53, p. 85-92, p. 192-196, 1890.

HARIOT, P. Les trois *Trentepohlia*. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 7, p. 216, 1893.

HOLMGREN, P.K.; HOLMEGREN, N.H. **Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff**. New York: New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, 1998.

JOHN, D.M. Order Trentepohliales. In: JOHN D.D.; Whitton B.A.;BROOK A.J. **The freshwater algal flora of the British Isles.** Cambridge: Cambridge University Press, p. 475-479, 2002.

JOSE, G.; CHOWDARY, Y.B.K. New records of *Trentepohlia* from India. **Nova Hedwigia**, v. 32, p. 725-731, 1980.

KARSTEN, G. Untersüchungen über die Familie der Chroolepideen. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 10, p. 1-66, 1891.

LEMES-DA-SILVA, N.M.; BRANCO, L.H.Z.; NECCHI-JUNIOR, O. Corticolous green algae from tropical forest remnants in the northwest region of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, p. 215-226, 2010.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; CASAMATA, A.D. The systematics of subaerial algae. In: SECHBACH, J. **Cell origin, Life in Extreme *habitat*s and Astrobiology. Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments.** Netherlands: Springer, v. 11, p. 601-617, 2007.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; GUIRY, M.D. Molecular systematics of the green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p. 1709-1715, 2006.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; WATERS, D.A.; CHAPMAN, R.L. The Trentepohliales revisited. **Constancea** 83 http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez_etal/trentepohliales.html. 2002. Acessado em 02/03/2012.

MARTIUS, K.F.P. **Flora Cryptogamica Erlangensis Slsfens Vegetabilia e Classe Ultima Linn**. Nuremburg: Argo Erlangensi J.L. Schrag, 1817, 501 p.

MÜLER ARGOVIENSIS, J. Lichenologische Belträge. XVI. **Flora**, v. 65, p. 515-519, 1882.

PRINTZ, H. Subaerial algae from South Africa. Kongelige Norske Videnskabers **Selskab Skrifter**, v. 1, p. 3-41, 1920.

PRINTZ, H. Vorarbeiten zu einer Monographie der Trentepohliaceen. **Nytt Magasin for Naturvidenskapene**, v. 80, p. 137-210, 1939.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. Diversity, life history and Ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban *habitat*s in Western Ireland. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 39-54, 2002.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. Composition and distribution of subaerial algal assemblages in Galway City, western Ireland. **Cryptogamie, Algologie**, v. 24, p. 245-267, 2003.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; CRITCHLEY, A.; AR GALL, E. The distribution of some species of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in France. **Cryptogamie, Algologie**, v. 24, p. 133-144, 2003.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New records of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Africa. **Nova Hedwigia**, v. 83, p. 431-449, 2006.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Panama. **Nova Hedwigia**, v. 87, p. 421-444, 2008.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Phylogenetic relationships and species circumscription in *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta). **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v. 52, p. 329-339, 2009b.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New and interesting records of *Trentepohlia* (Trentepohliales, Chlorophyta) from French Guiana, including the description of two new species. **Phycologia**, v. 46, p. 698-708, 2007.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Diversity and ecology of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in French Guiana. **Cryptogamie, Algologie**, v. 29, p. 13-43, 2008.

RINDI, F.; SHERWOOD, A.R.; GUIRY, M.D. Taxonomy and distribution of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in the Hawaiian Islands. **Phycologia**, v. 44, p. 270-284, 2005.

SARMA, P. The freshwater Chaetophorales of New Zealand. **Beihefte zur Nova Hedwigia**, v. 58, p. 1-169, 1986.

SILVA, P.C. A review of nomenclatural conservation in the algae from the point of view of the type method. **University of California Publications Botanical**, v. 25, p. 214-324, 1952.

TRACANNA, B.C. Trentepohliales (Chlorophyta): el género *Trentepohlia* Martius para las províncias de Salta y Tucumán (Argentina). **Lilloa**, v. 37, p. 47-59, 1989.

THOMPSON, R.H.; WUJEK, D.E. *Printzina* gen. nov. (Trentepohliaceae), including a description of a new species. **Journal of Phycology**, v. 28, p. 232-237, 1992.

Capítulo III

Flora de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) pseudoparenquimatosas de biomas brasileiros

1. Resumo

Os organismos da ordem Trentepohliales podem apresentar diferentes formas, desde mais complexas até indivíduos com poucas células que vivem dentro de um hospedeiro e, no Brasil, a diversidade desses organismos é ainda muito pouco conhecida. Entre as formas pseudoparenquimatosas, somente uma espécie, *Phycopeltis arundinacea*, tem ocorrência registrada para o território brasileiro. Em função dessa lacuna no conhecimento da biodiversidade, esse estudo tem como objetivo realizar o levantamento florístico das Trentepohliales pseudoparenquitosas em diferentes biomas brasileiros e apresentar informações sobre características morfológicas das espécies/populações encontradas. Esse estudo foi realizado em seis áreas do Brasil, representando cinco biomas distintos: cerrado, nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra) e Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros), floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia), restinga, no estado de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (região de Campos do Jordão) e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista). Foram encontradas 12 morfoespécies de Trentepohliales pseudoparenquimatosas, três delas pertencentes à *Cephaleuros* e as outras nove, à *Phycopeltis*. Oito das morfoespécies encontradas constituem novos registros para o Brasil e outros três permanecem sem identificação e podem ser novas espécies para a ciência. Os resultados obtidos nesse levantamento reafirmam a falta de conhecimento sobre a diversidade desse grupo de microalgas, além de aspectos de sua morfologia e distribuição.

2. Introdução

Os organismos da ordem Trentepohliales podem assumir formas diversificadas, possuindo desde complexas de vida livre até indivíduos com poucas células que vivem dentro de um hospedeiro.

As Trentepohliales que possuem forma predominantemente pseudoparenquimatosa ocupam, principalmente, folhas de vegetais superiores e são consideradas epilíticas (quando ocorrem na superfície foliar) ou endofíticas (quando ocorrem no interior do tecido foliar). Tais organismos pertencem aos gêneros *Phycopeltis, Cephaleuros e Stomatochroon*.

O gênero *Phycopeltis,* que tem como espécie-tipo *P. epiphyton*, foi caracterizado, na descrição original de Millardet, como uma alga aerofítica pseudoparenquimatosa com talos discoidais ou ramulados, de ocorrência epífita. Na revisão do gênero, Thompson & Wujek (1997) propuseram que as características mais importantes para a separação das espécies incluem características do esporângio e do gametângio, bem como sua posição, forma do talo, dimensões celulares, relação comprimento/largura de gametófitos e esporófitos e de células distais e internas, possibilidade de duplicação assexual do gametófito, presença de pelos estéreis ou células glandulares e a origem do esporangióforo (produzido pela célula apical ou por sucessivas proliferações da célula de suporte).

As espécies de *Phycopeltis* estão entre os mais abundantes e distintos representantes das comunidades de criptógamas epifíticas (KIEW, 1988) e são consideradas como organismos de importante papel ecológico em ecossistemas tropicais montanhosos, onde foram abundantemente registradas (WHITTEN et al., 2000). Além das monografias de Printz (1921, 1939), uma grande revisão sobre o gênero foi realizado por Thompson & Wujek (1997) e os trabalhos mais relevantes sobre a diversidade desses organismos em regiões tropicais foram feitos por Neustupa (2003, 2005), Rindi & López-Bautista (2007) e Rindi et al. (2008). Embora inclua uma

grande e importante área, nenhum levantamento florístico do grupo foi realizado em território brasileiro até o momento.

O gênero *Cephaleuros*, descrito por Kunze, possui aproximadamente 15 espécies, que são amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Esses organismos geralmente crescem abaixo da cutícula da planta hospedeira e muitos são considerados epífitos obrigatórios (THOMPSON & WUJEK, 1997). Algumas espécies são parasitas de plantas economicamente importantes, o que fez com que o gênero fosse historicamente mais abordado que a maioria das Trentepohliales. Entre as espécies de *Cephaleuros*, *C. virescens* Kunze (espécie-tipo) e *C. parasiticus* Karsten são as mais citadas como parasitas de plantas superiores, sendo que as hospedeiras incluem goiaba, frutas cítricas, café e chá (FAWCETT & LEE, 1926; HOLCOMB et al., 1998; BROOKS, 2004; RIVERO & CASTELLANOS, 2004). Os principais efeitos ligados à infecção das espécies de *Cephaleuros* são a redução da taxa de respiração e dos níveis de glucose, sucrose, proteínas, nitrito e aminoácidos (DASGUPTA & BINDRA, 1992).

Grande parte das informações taxonômicas do gênero está apresentada nos trabalhos de Karsten (1891), Printz (1921, 1939) e, mais tarde, nos estudos de Sarma (1986) e Thompson & Wujek (1997). Rindi & López-Bautista (2008) e Rindi et al. (2008) apresentaram informações de alguns táxons para regiões tropicais das Américas do Sul e Central, enquanto Suto & Ohtani (2009) descreveram três novas espécies para o Japão. Outros estudos são encontrados na literatura, principalmente abordando espécies parasitas (BROOKS, 2004; PONMUGURAN, et al., 2010).

Stomatochroon Palm é o gênero menos conhecido de todas as Trentepohliales. Inclui quatro espécies e caracteriza-se pelo talo formado por poucas células, crescendo em estômatos folhas de plantas vasculares, sendo sua presença no hospedeiro revelada pela presença de gametângios e esporângio laterais, preoduzidos para fora do estômato, sendo visíveis na superfície abaxial das folhas (THOMPSON & WUJEK, 2007).

Considerando a falta de estudos com Trentepohliales pseudoparenquimatosas no Brasil, o presente estudo tem como objetivo contribuir com o levantamento florístico desses organismos em território brasileiro, além de apresentar informações sobre características morfológicas das espécies/populações encontradas.

3. Material & métodos

Coletas de material biológico e de dados ambientais foram realizadas em seis áreas do Brasil, que incluíram quatro biomas distintos: cerrado, nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra - PNSC) e Goiás (Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros - PNCV), floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba - PESM) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia - PNI), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (Região de Campos do Jordão - RCJ), e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista - FFNP).

Os trabalhos de campo foram concentrados no período considerado mais favorável ao desenvolvimento destes organismos, que é o chuvoso (LEMES-DA-SILVA et al., 2010). Essa é uma condição relevante para as amostragens, principalmente em lugares com menor umidade, como é o caso do cerrado.

O material foi coletado (como descrito no capítulo I) por meio de caminhada livre dentro das áreas. Nesse estudo, os organismos pseudoparenquimatosos foram procurados em todos os substratos disponíveis e, quando encontrados, foram armazenados em sacos de papel e mantidos em geladeira para maior conservação das características morfológicas. Uma parte representativa desse material foi preservada em formaldeído 4% e depositada no Herbário SJRP (IBILCE/UNESP – campus de São José do Rio Preto – HOLMGREN & HOLMGREN, 1998), para testemunho.

Os espécimes foram observados, primeiramente, em microscópio estereoscópico (Olympus SZX7) para visualização e registro das características gerais da massa. Posteriormente, os organismos foram estudados sob microscópio de luz (Olympus BX50), com sistema de captura de imagens acoplado ao aparato óptico.

Os critérios morfológicos utilizados foram forma do talo, presença de pelos ou filamentos eretos estéreis, características das células vegetativas (forma, tamanho e proporção), características dos cloroplastos e características da estrutura de reprodução (forma, tamanho, disposição e localização do esporângio ou gametângio). Para cada população encontrada, sempre que possível, foram feitas 30 observações de cada uma das características avaliadas.

Nas descrições, foram utilizadas as seguinte abreviações: diam. (diâmetro), compr. (comprimento) e RC/L (relação comprimento/largura celular).

4. Resultados

No levantamento de organismos provenientes das seis regiões brasileiras, foram encontrados 12 espécies de Trentepohliales pseudoparenquimatosas, sendo três delas pertencentes à *Cephaleuros* e os outras nove, à *Phycopeltis*, não tendo sido encontrados representantes do gênero *Stomatochroon*.

Chave de identificação das morfoespécies de *Cephaleuros* e *Phycopeltis* encontradas.

1. Talos com crescimento subcuticular .....2 (*Cephaleuros*)

1. Talos com crescimento supracuticular .....4 (*Phycoprltis*)

2. Sistema ereto composto por esporangióforos ..... *C*. cf. *parasiticus*

2. Sistema ereto composto por esporangióforos e filamentos estéreis..... 3

3. Talos irregulares, ramos abertos.....*C*. cf. *karstenii*

3. Talos arredondados, ramos fechados..... *Cephaleuros* sp.1

4. Talos ramulados 5

4. Talos discoides 7

5. Filamentos eretos ausentes ..... *P.* cf. *vaga*

5. Filamentos eretos presentes; formados a partir do sistema prostrado 6

6. Células do filamento ereto com até 6,4µm diam. e 10,4µm compr. .....

..... *P*. cf. *flabellata*

6. Células do filamento ereto maiores de 8,0µm diam. e 16,0µm compr. .....

..... *P. amboinensis*

7. Filamentos eretos presentes ..... *P. pilosa*

7. Filamentos eretos ausentes 8

8. Células terminais com papilas glandulares unicelulares ..... *P.* cf. *treubii*

8. Células terminais sem papilas glandulares unicelulares 9

9. Talos com células marginais lobadas..... 10

9. Talos com células marginais não lobadas..... 11

10. Esporângios com até 10µm diam..... *P. arundinacea*

10. Esporângios com mais de 10µm diam. ..... *P. epiphyton*

11. Células majoritariamente com 3,2-4,0µm diam. e 9,6-13,6 µm compr. .....

..... *Phycopeltis* sp.1

11. Células majoritariamente com 6,0-8,0µm diam. e 12,0-20,0 µm compr. .....

..... *Phycopeltis* sp.2

Cephaleuros cf. *karstenii* Schmidle, Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 15: 457, 1897.

(Figs. 1-3)

Talos consistindo de colônias irregulares, alaranjadas ou verdes. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, irregular, ramificados dicotomicamente, ramos abertos; células irregulares. Sistema ereto filamentoso; filamentos estéreis não afilados no ápice, não ramificados; cloroplasto parietal; célula apical cônico-arredondada; células cilíndricas, 14,4-23,2µm diam., 57,6-92,0µm compr., RC/L 3,3-5,8; esporangióforos abundantes, com 5-10 células, esporângios reniformes, em grupos de 17,6-19,2µm diam., 24,0-25,4µm compr., RC/L 1,2-1,4.

Ocorrência: FFNP.

Comentários: Os espécimes observados apresentaram características morfológicas concordantes com as descritas para *C. karstenii* (THOMPSON & WUJEK, 1997), principalmente as colônias com ramos abertos e as características dos filamentos do sistema ereto. No entanto, detalhes da morfologia das células do sistema prostrado não puderam ainda serem observados, devido a penetração destas no tecido foliar, o que é comum para espécies desse gênero. Caso confirmada a identidade específica das populações, o novo registro ampliará o conhecimento da área de ocorrência geográfica da espécie, que é bem distribuída em regiões tropicais.

Cephaleuros cf. *parasiticus* Karsten, Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg 10: 32, 1891.

(Figs. 4-6)

Talos consistindo de colônias mais ou menos arredondadas, alaranjadas, com ramos dicotômicos. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, irregular e muito ramificado; células irregulares;. Sistema ereto composto por esporangióforos abundantes, com 5-10 células, 12,0-15,2µm diam., 36,0-64,0µm compr., RC/L 2,4-4,7. Esporângios reniformes, em grupos de 2-5, 20,0-24,0µm diam., 25,6-29,6µm compr., RC/L 1,1-1,4.

Ocorrência: PNSC e PNCV

Comentários: Os organismos encontrados nas áreas de cerrado apresentaram semelhança morfológica com *C. parasiticus*, além disso, a lesão que essa alga produziu nas folhas das plantas hospedeiras é semelhante à lesão observada por Sarma (1986) e Thompson & Wujek (1997), em outros hospedeiros. Nesse levantamento, essa morfoespécie foi observada somente em regiões de cerrado, crescendo em folhas de uma única espécie de hospedeiro, *Kielmeyera* sp. (Clusiaceae). Entretanto, *C. parasiticus* é mencionada na literatura ocorrendo em uma grande variedade de hospedeiros e com ampla distribuição geográfica em regiões tropicais e subtropicais. Embora grande parte das características morfológicas dessas populações sejam compartilhadas com *C. parasiticus,* as características morfológicas das células do sistema prostrado ainda deixam dúvida sobre a definição da identidade específica das populações.

Cephaleuros sp.1

(Figs. 7-9)

Talos consistindo de pequenas massas arredondadas, alaranjadas. Sistema prostrado pseudoparenquimatoso, discoide ou irregular; células irregulares. Sistema ereto filamentoso, filamentos estéreis não afilados no ápice, não ramificados; cloroplasto parietal; célula apical cônico-arredondadas; células cilíndricas, 12,0-16,8µm diam., 61,6-88,0µm compr., RC/L 3,7-7,0. Esporangióforos abundantes, com 5-10 células, esporângios reniformes, em grupos de 3-8, 16,8-22,4µm diam., 24,0-32,0µm compr., RC/L 1,2-1,5. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM, RCJ e FFNP.

Comentários: Ainda não foi proposta a identificação desses organismos, pois estes apresentaram sistema prostrado muito penetrados no tecido foliar da planta hospedeira, dificultando a observação de detalhes da morfologia da planta.

Phycopeltis amboinensis (Karsten) Printz, Nytt Magasin f. Naturv. 80: 176, 1939.

(Figs. 10-12)

Talo ramulado; ramificações dicotômicas; células marginais não lobadas. Células cilíndricas, (4,8-)6,4-8,0µm diam., 17,6-20,8(-21,6)µm compr., RC/L (2,1-)2,7-3,0(-3,3). Filamentos eretos curtos, com 5-12 células, não ramificados, distribuídos por todo talo; células cilíndricas, 8,0-9,6(-10,4)µm diam., 16,0-20,0µm compr., RC/L 1,7-2,0; célula apical cônico-arredondada. Esporângios ovais, isolados, originando-se de um esporangióforo com 10-15 células, 12,0-15,2µm diam., 16,0-20,0µm compr., RC/L 1,3. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM e PNI.

Comentários: A morfologia dos organismos identificados como *P. amboinensis* nesse trabalho são semelhantes às descrições de Printz (1939) e Thompson & Wujek (1997), embora estes autores apresentem esse táxon com o sistema prostrado com ramos abertos e não como discos e com o comprimento das células do sistema prostrado maiores (22,0-32,0µm). Rindi & Lopéz-Bautista (2008), entretanto, encontraram *P. amboinenses* com medidas semelhantes às encontradas nesse estudo e também com os talos discoides. A espécie foi registrada para ambientes tropicais: Porto Rico, Trinidad-Tobago, Curaçao, El Salvador, Costa Rica e Colômbia (THOMPSON & WUJEK, 1997), Indonésia (NEUSTUPA, 2003), Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008) e Panamá (RINDI et al., 2008).

Este é o primeiro registro da espécie para o Brasil.

Phycopeltis arundinacea (Montagne) De Toni, Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. 1*:* 15, 1889.

(Figs. 13-15)

Talo discoide ou irregular; ramificações dicotômicas; poucas células marginais lobadas. Células centrais irregulares 4,0-4,8µm diam., 8,0-12,0µm compr., RC/L 1,8-

2,8, células distais cilíndricas, 5,6-7,2µm diam., 12,0-19,2µm compr., RC/L 1,8-2,5(-3,4). Esporângios subesféricos, 8,8-9,6µm diam., 11,2-12,0µm compr., RC/L 1,2-1,3. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM, PNI, RCJ e FFNP.

Comentários: As populações de *P. arundinacea* da mata atlântica e cerrado apresentaram características morfológicas e métricas concordantes com aquelas atribuídas para essa espécie na literatura. A circunscrição de *P. arundinacea*, entretanto, é confusa e, segundo Rindi et al. (2004), a morfologia desse organismo está sujeita a graus de variação devido a fatores ambientais. Rindi et al. (2008) mencionam que os limites propostos por Thompson & Wujek (1997) estão incorretos, isso por que, a presença de esporangióforos pode estar ligada ao clima onde o espécime se desenvolve. Rindi & Guiry (2002) e Rindi et al. (2003, 2004) não observaram esporangióforos em espécimes europeus, enquanto esses são presentes em populações de regiões tropicais, como as descritas por Neustupa (2003, 2005), Rindi et al. (2008) e Rindi & López-Bautista (2008). No entanto, espécimes africanos de *P. arundinacea* analisados por Rindi et al. (2006) também não apresentaram produção de esporangióforos, evidenciando que essa é uma característica bastante variável na espécie.

Nos espécimes brasileiros observados, não foram encontrados esporangióforos e as células de suporte, seguidas de esporângios isolados, nascem diretamente de células vegetativas intercalares, assim como ocorre nas populações europeias e africanas. Akiyama (1971) registrou essa espécie para o Brasil e a descrição apresentada pelo autor mostra *P. arundinacea* sem esporangióforos. As outras características morfométricas das populações brasileiras são congruentes com as encontradas na literatura.

Rindi et al. (2006) encontraram organismos com medidas de comprimento celular sobrepostas às observadas nesse estudo. *Phycopeltis arundinacea* foi registrada na Argélia (THOMPSON & WUJEK, 1997), Brasil (AKIYAMA, 1971), Irlanda

(RINDI & GUIRY, 2002), França (RINDI et al., 2003), Indonésia (NEUSTUPA, 2003), Espanha (RINDI et al., 2004), África (RINDI et al., 2006), Panamá (RINDI et al., 2008) e Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008).

Phycopeltis epiphyton Millardet, Mémoires de la Société des Sciences Naturelles de Strasbourg 6: 42, 1870.

(Figs. 16-18)

Talo discoide; ramificações dicotômicas; células marginais lobadas. Células da porção central irregulares, células da porção distal cilíndricas, 4,8-6,4(-8,8)µm diam., (10,4-)11,2-12,8µm compr., RC/L 1,7-2,5. Célula apical não lobada. Esporângios subesféricos, 14,4-16,0µm diam., 16,8-20,0µm compr. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: As características morfológicas dos organismos observados são compatíveis com as descrições e ilustrações encontradas na literatura para a espécie. Apenas a descrição apresentada por Thompson & Wujek (1997) relata comprimento das células vegetativas (15-26µm) maior do que o encontrado nos organismos da mata atlântica. *Phycopeltis epiphyton* é uma das espécies mais bem distribuídas do gênero, sendo registrada para a Alemanha (MILLARDET, 1870), Inglaterra, EUA, Java, El Salvador, Costa Rica e Colômbia (THOMPSON & WUJEK, 1997), Índia (KRISHNAMURTHY, 2000), Indonésia (NEUSTUPA, 2003), África (RINDI et al., 2006) e Panamá (RINDI et al., 2008).

Esse é o primeiro registro da espécie para o Brasil.

Phycopeltis cf. *flabellata* Thompson & Wujek, Trentepohliales: Cephaleuros, Phycopeltis andStomatochroon. Morphology, taxonomy and ecology 81, 1997.

(Figs. 19-20)

Talo ramulado; ramos irregulares, divergentes, vários filamentos centrais; ramificações dicotômicas. Células marginais lobadas, 5,6-8,0(-9,6)µm diam., 16,0-20,0(-25,6)µm

compr., RC/L 1,7-2,5(-4,4), células do centro cilíndricas, 4,8-5,6(-8,8)µm diam., (8,0-)10,4-12,8(-16,0)µm compr., RC/L 1,2-2,0. Filamentos eretos curtos, com 4-5 células, não ramificados, raros; células cilíndricas, 3,2-4,8(-6,4)µm diam., (4,8-)9,6-10,4µm compr., RC/L 1,1-2,0. Célula apical cônico-arredondada. Gametângios arredondados, espalhados pelo talo, 9,6µm diam. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM.

Comentários: Os organismos encontrados na região de mata atlântica são morfometricamente correspondentes aos descritos por Thompson & Wujek (1997). Entretanto, a identificação dos organismos estudados precisa de confirmação, uma vez que não foram observados esporângios. Embora tivessem sido observados vários gametângio, apenas um pode ser medido. Essa espécie foi registrada para a Costa Rica, Curaçao, El Salvador, Porto Rico, por Thompson & Wujek (1997), e para o Panamá, por Rindi et al. (2008). Caso confirmada a identificação, esse será o primeiro registro de ocorrência da espécie no Brasil.

Phycopeltis pilosa Thompson & Wujek, Trentepohliales: Cephaleuros, Phycopeltis andStomatochroon. Morphology, taxonomy and ecology 85, 1997.

(Figs. 21-24)

Talo discoide ou irregular; ramificações dicotômicas. Células marginais lobadas, (4,8-)7,2-8,0µm diam., 11,2-16,0(-22,4)µm compr., RC/L (2,0-)2,5(-3,5), células do centro cilíndricas, 4,8-5,6(-6,4)µm diam., (8,0-)10,4-12,0(-14,4)µm compr., RC/L 1,4-2,5. Filamentos eretos longos, atenuados no ápice, distribuídos por todo talo. Esporângios isolados, distribuídos por todo talo, ovais, 14,4µm diam., 19,4µm compr., RC/L 1,3. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM e PNI.

Comentários: As populações encontradas nesse estudo é corresponde ao táxon descrito por Thompson & Wujek (1997). Essa espécie tem ocorrência registrada para a Colômbia e Costa Rica e é o primeiro registro para o Brasil.

Phycopeltis cf. *treubii* Karsten, Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg 10: 16, 1891.

(Figs. 25-26)

Talo discoide, alaranjado; ramificações dicotômicas; células marginais lobadas. Células cilíndricas, 8,0-9,6(-11,2)µm diam., (20,0-)23,2-28,0(-32,0)µm compr., RC/L 2,1-3,0, células terminais com papila glandular unicelular. Esporângios distribuídos por todo o talo, ovais, 13,6-15,2µm diam., 14,4-16,0µm compr., RC/L 1,3; gametângios não observados.

Ocorrência: PNI.

Comentários: As características apresentadas pelos espécimes encontrados nesse estudo correspondem às descrições apresentadas para espécie por Printz (1939) e Thompson & Wujek (1997). *Phycopeltis treubii* é descrita como possuindo gametângios e esporângios no mesmo talo ou talos somente com gametângios, não tendo sido encontradas informações de espécimes somente com esporângios, como ocorre nos espécimes estudados. Mais organismos precisam ser analisados para a identificação conclusiva da espécie.

Phycopeltis treubii é uma das espécies epifílicas mais frequentes em regiões tropicais (PRINTZ, 1939, THOMPSON & WUJEK, 1997), com distribuição pantropical. A espécie já foi encontrada no sudeste da África, por Neustupa (2005), e Guiana Francesa, por Rindi & López-Bautista (2008). Caso confirmada a identificação, esse constituirá o primeiro registro de ocorrência da espécie para o Brasil.

Phycopeltis cf. *vaga* Thompson & Wujek, Trentepohliales: Cephaleuros, Phycopeltis andStomatochroon. Morphology, taxonomy and ecology 89, 1997.

(Figs. 27-30)

Talo ramulado, formado por ramos irregulares e estreitos; ramos com 1-3 filamentos centrais; ramificações dicotômicas. Células marginais lobadas. Células cilíndricas,

(3,2-)4,0-4,8(-6,4)µm diam., (6,4-)8,0-12,0(-13,6)µm compr., RC/L (1,5-)2,0(-3,3). Filamentos eretos ausentes. Gametângios isolados, formados a partir de células próximas à periferia, ovais, (12,0-)16,0-16,8µm diam., (1,6-)24,0(-25,6)µm compr., RC/L (1,2-)1,5. Esporângios não observados.

Ocorrência: PESM e PNI.

Comentários: As populações de *P*. cf. *vaga* observadas basicamente concordam com as características morfológicas descritas e ilustradas por Thompson & Wujek (1997) e Rindi & López-Bautista (2008). Entretanto, os organismos encontrados possuem comprimento celular menor do que descrito para a espécie (15-19µm - THOMPSON & WUJEK, 1997; 12,0-17,0µm - RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008; (10,5-)13,5-22,0(-25,0)µm - NEUSTUPA, 2003), impossibilitando uma identificação específica segura.

Phycopeltis vaga é descrita somente para regiões tropicais, sendo registrada em Porto Rico (THOMPSON & WUJEK, 1997), Indonésia e Malásia (NEUSTUPA, 2003) e Guiana Francesa (RINDI & LÓPES-BAUTISTA, 2008). Caso confirmada a identificação, este constituirá o primeiro registro da espécie para o Brasil.

Phycopeltis sp.1

(Fig. 31)

Talo discoide ou irregular; ramificações dicotômicas; discos amarelados no centro da colônia. Células marginais não lobadas. Células cilíndricas, 3,2-4,0(-8,0)µm diam., (8,8-)9,6-13,6µm compr., RC/L (1,3-)2,0-2,4(-3,4). Esporângios não observados. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM e PNI.

Comentários: Quase todos os organismos de *Phycopeltis* sp.1 observados apresentaram discos de coloração amarelada no centro da colônia, que pode ser causa de infecções causadas por fungos. Outra característica das populações analisadas foi a ausência de carotenoides em todas as células, sendo os talos completamente verdes. As populações encontradas possuem morfologia geral dos

talos e das células vegetativas semelhantes àquelas apresentadas por *P. javanica* Neustupa (NEUSTUPA, 2005), entretanto não foram observadas estruturas reprodutivas, o que impossibilitou a identificação específica do táxon.

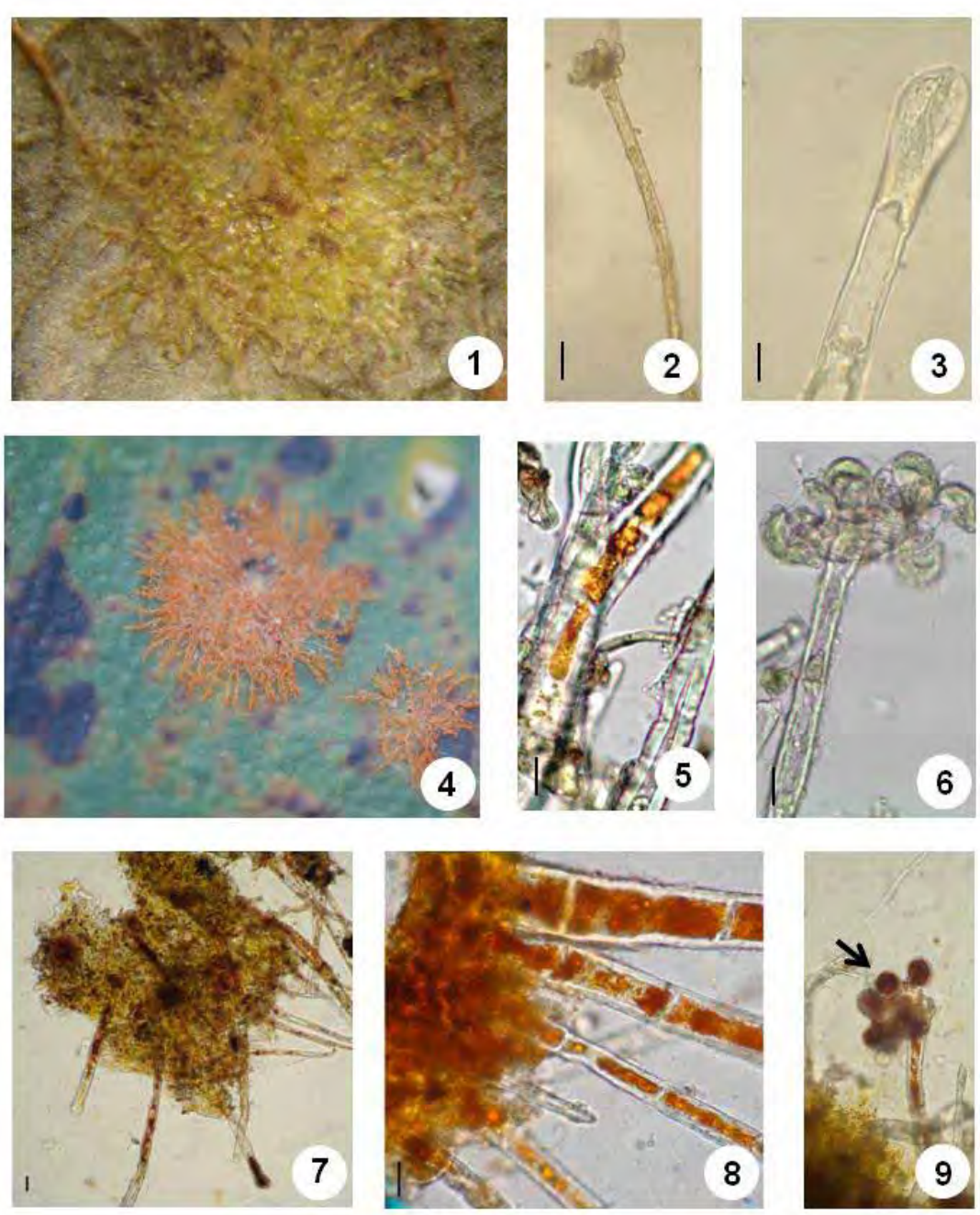
Phycopeltis sp.2

(Fig. 32)

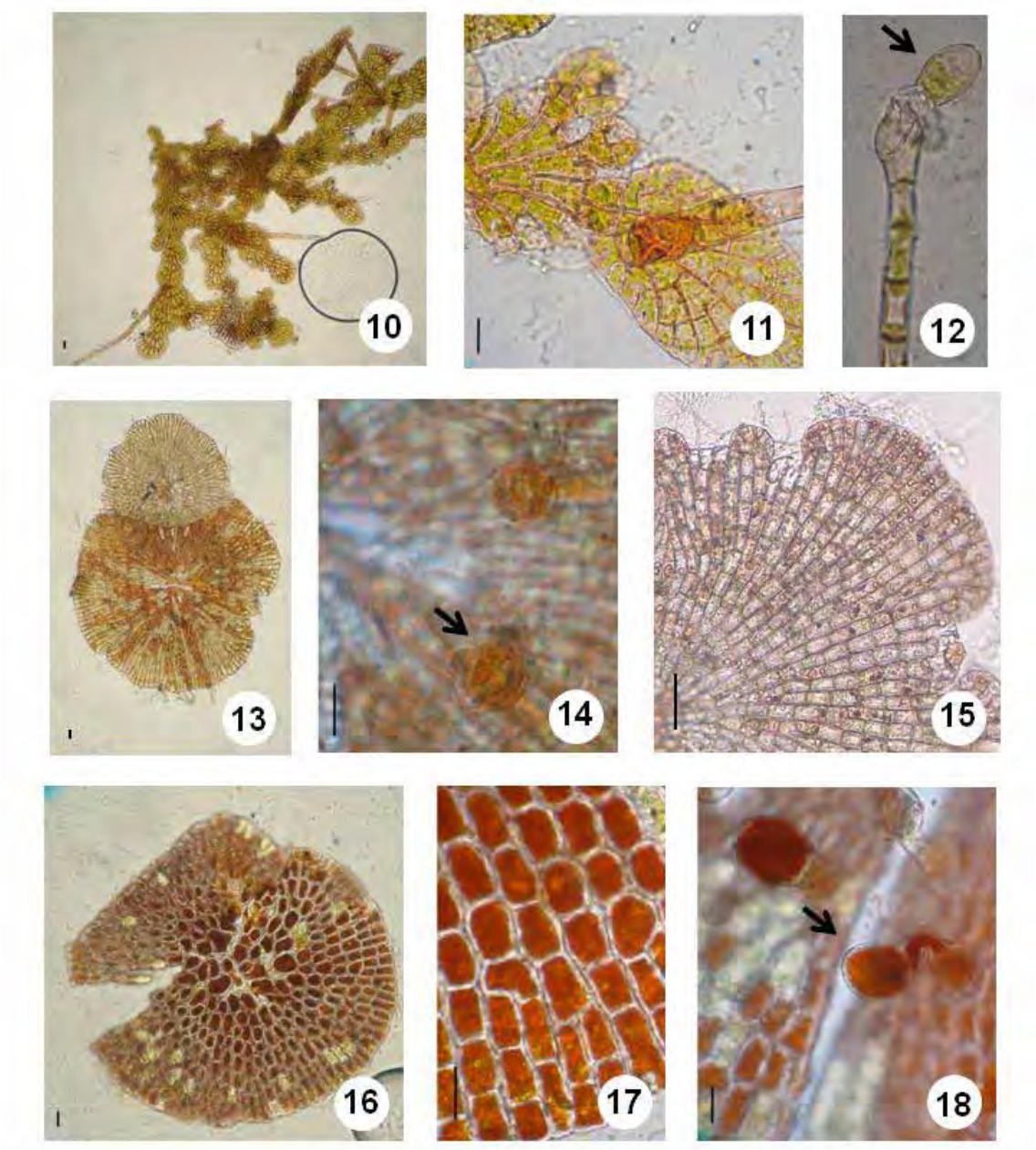
Talo discoide; ramificações dicotômicas. Células marginais não lobadas. Células cilíndricas, (5,0-)6,0-8,0µm diam., 12,0-20,0µm compr., RC/L 1,5-3,4. Esporângios não observados. Gametângios não observados.

Ocorrência: PESM.

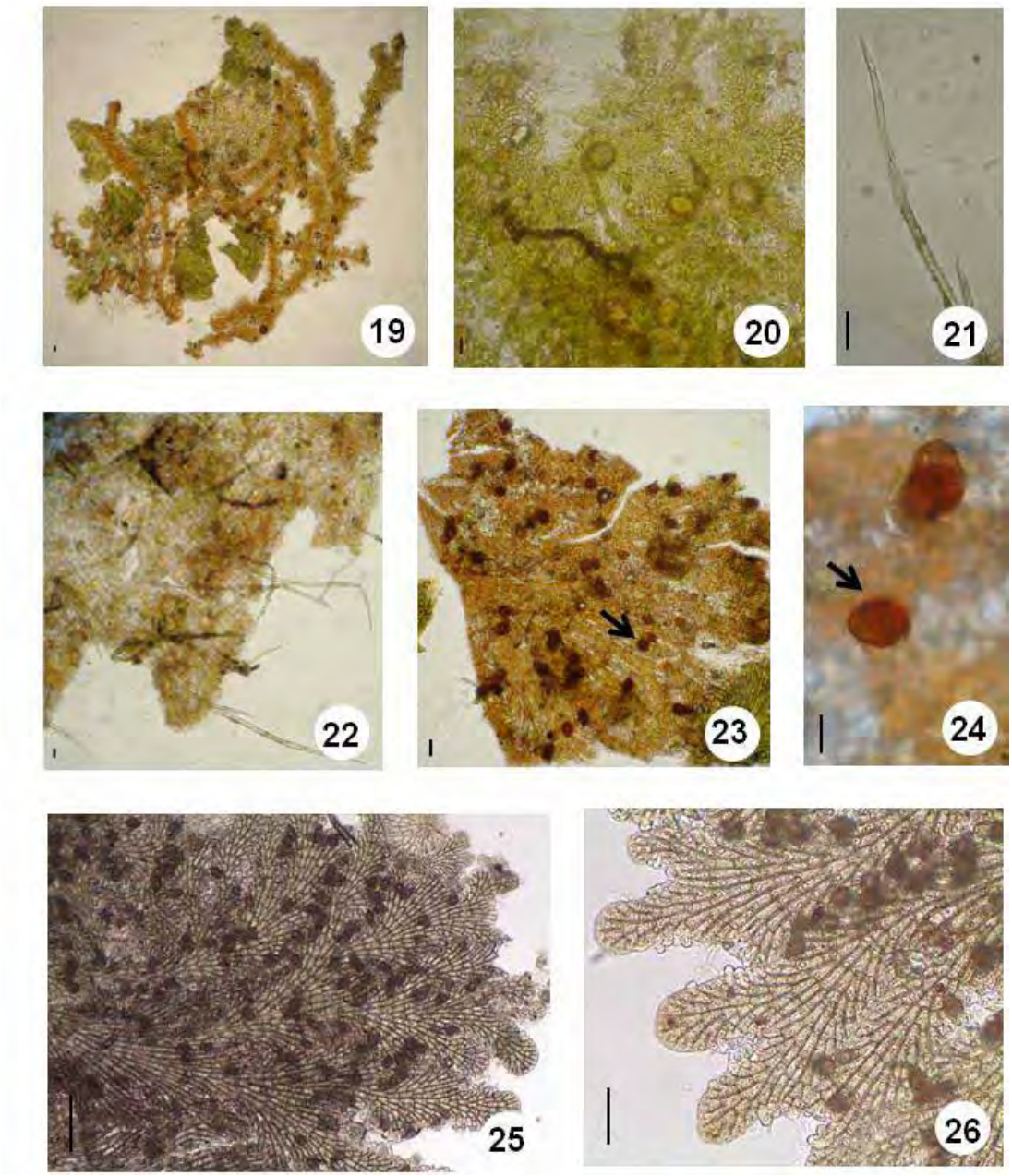
Comentários: As características morfológicas e métricas das populações observadas são semelhantes às encontradas nas descrições de *P. treubii* Karsten (KARSTEN, 1891; THOMPSON & WUJEK, 1997; NEUSTUPA, 2005). Entretanto, a identificação em nível específico não pode ser concluída devido a ausência de estruturas reprodutivas.



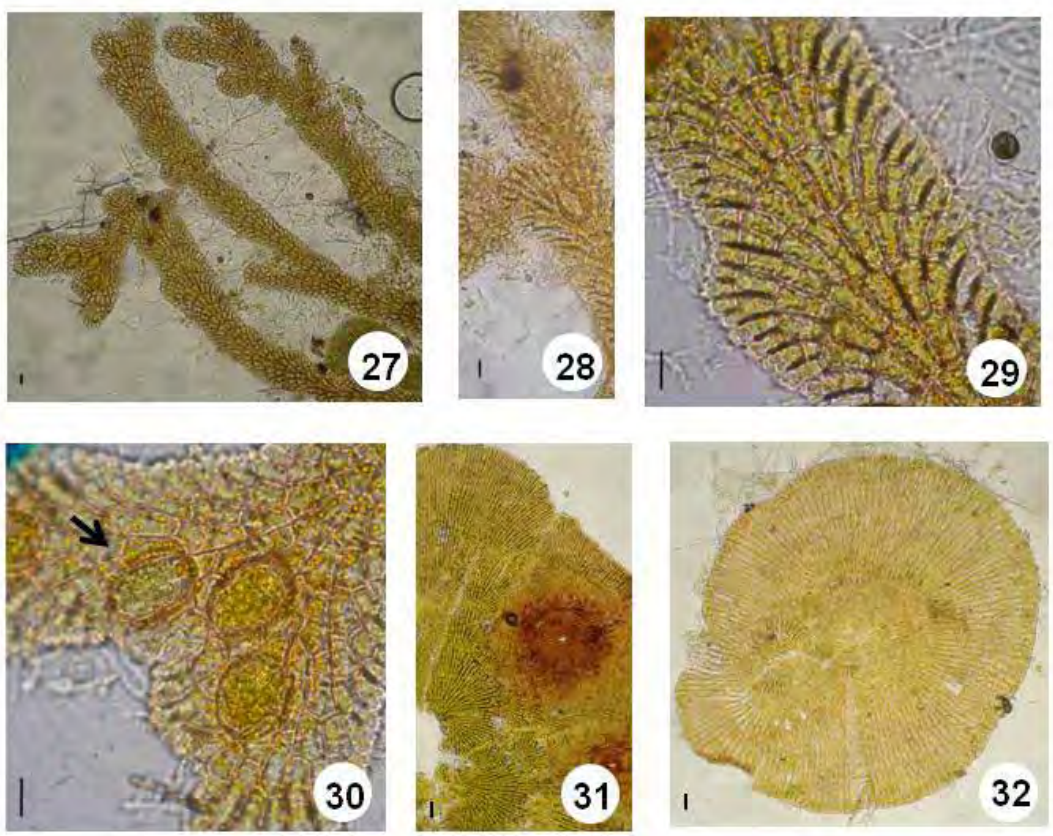
Figuras 1-9. 1-3. *C.* cf. *karstenii*. 4-6. *C.* cf. *parasiticus.* 7-9. *Cephaleuros* sp.1; 9. Seta = esporângio (Escalas = 10µm).



Figuras 10-18. 10-12. *P. amboinensis*; 12. Seta = esporângio. 13-15. *P. arundinacea*; 14. Seta = esporângio. 16-18. *P. epiphyton*; 18. Seta = esporângio (Escalas = 10µm).



Figuras 19-26. 19-20. *P.* cf. *flabellata*. 21-24. *P. pilosa*; 23. Seta = esporângio; 24. Seta = esporângio. 25-26. *P. treubii* (Escalas = 10µm).



Figuras 27-32. 27-30. *P.* cf. *vaga*; 30. Seta = gametângio. 31. *Phycopeltis* sp.1. 32. *Phycopeltis* sp.2 (Escalas = 10µm).

5. Discussão

No atual levantamento florístico, foram registradas 12 morfoespécies pertencentes aos gêneros *Phycopeltis* e *Cephaleuros*, das quais somente *P. arundinacea* havia sido registrada anteriormente para o Brasil, por Akiyama (1971). Cinco morfoespécies dentre as 12 encontradas permaneceram como "cf." nas identificações e juntamente com outras três confirmadas, constituem novos registros para o território nacional. Ainda, três táxons permaneceram sem identificação, sugerindo que muito ainda pode ser descoberto no Brasil sobre esse grupo.

Os critérios de identificação utilizados para as espécies pseudoparenquimatosas parecem ser funcionais, especialmente para as espécies de *Phycopeltis*. Além das características mensuráveis em todos os organismos, como morfometria das células, muitas espécies possuem características marcantes, forma do talo e/ou presença de pelos e esporangióforos.

As espécies de *Phycopeltis* foram encontradas principalmente em áreas sombreadas de floresta ombrófila e houve similaridade com o resultado de outros levantamentos realizados em áreas tropicais. Neustupa (2003) registrou a ocorrência de 12 espécies desse gênero em áreas de floresta tropical na Indonésia e Malásia, sendo que cinco desses táxons também foram encontrados no presente estudo (*P. amboinensis, P. arundinacea, P. epiphyton, P. treubii* e *P.* cf. *vaga*). Dois importantes levantamentos foram realizados recentemente em regiões tropicais da América. Rindi & López-Bautista (2008) encontraram seis espécies para áreas de floresta na Guiana Francesa (quatro destas são comuns à flora agora inventariada: *P*. cf. *amboinensis*, *P*. cf. *arundinacea*, *P*. cf. *treubii* e *P*. cf. *vaga*). Rindi et al. (2008) observaram sete espécies de *Phycopeltis* no Panamá, sendo que quatro foram coincidentes com as ocorrências registradas nesse trabalho (*P*. cf. *amboinensis*, *P*. cf. *arundinacea*, *P. epiphyton* e *P*. cf. *flabellata*).

As morfoespécies de *Cephaleuros*, nesse estudo, revelaram ocorrência mais restrita a ambientes ou hospedeiros. É o caso de *Cephaleuros* cf. *parasiticus,* que foi encontrada somente em áreas de cerrado (a única espécie de Trentepohliales encontrada no Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros) e teve sua ocorrência ligada à presença de *Kielmeyera* sp. como hospedeiro. Essa espécie de alga foi anteriormente registrada em uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo pertencentes às famílias Euphorbiaceae, Magnoliaceae e Myrtaceae, entre outras (Thompson & Wujek, 1997), o que revela ausência de especificidade entre *C. parasiticus* e um único tipo de hospedeiro. Nas áreas de cerrado amostradas, foi observada grande abundância de indivíduos de *Kielmeyera* sp. e a ocorrência de *C*. cf. *parasiticus* nessas plantas pode sugerir preferência da alga ao tipo de folha desse hospedeiro em relação às outras espécies de plantas encontradas nesse ambiente.

De acordo com Neustupa (2003), a diversidade de *Phycopeltis* é provavelmente muito grande e os dados taxonômicos infragenéricos são ainda totalmente baseado em caracteres morfológicos, sendo esperadas modificações nas circunscrições das espécies com o uso de ferramentas moleculares. Além disso, considerando o fato de que algumas espécies são associadas com condições ecológicas específicas, é possível admitir que existam também mudanças fenotípicas de algumas espécies quando se desenvolvendo em diferentes ambientes (Neustupa, 2003).

As morfoespécies de *Cephaleuros*, por outro lado, foram observadas majoritariamente em regiões de cerrado, as quais são ambientes abertos e caracterizadas por apresentarem umidade atmosférica mais baixa e temperaturas mais elevadas. Os espécimes de *Cephaleuros* são encontrados em posição subcuticular e, em alguns casos, podem parasitar a planta hospedeira. Dessa forma, esses organismos estão menos expostos à baixa umidade e ao excesso de luz, o que torna o microambiente foliar favorável ao crescimento dessas algas.

O gênero *Stomatochroon* não foi observado nesse estudo, embora sua presença nas áreas amostradas fosse esperada, uma vez que essa espécie foi registrada para áreas tropicais da América do Sul (Colômbia e Venezuela) e América Central (Costa Rica). A ausência de registros de ocorrência desse gênero no atual levantamento pode estar relacionada à dificuldade de observação dos organismos, pois esses são caracterizados pelo tamanho pequeno (poucas células) e crescem endofiticamente em folhas de plantas vasculares (RINDI et al., 2008). Em outros levantamentos de Trentepohliales realizados em áreas tropicais (Guiana Francesa, RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008; Panamá, RINDI et al., 2008), representantes desse gênero também não foram registrados, embora análises cuidadosas tenham sido feitas com o material estudado (F. RINDI, comunicação pessoal).

Os resultados presentemente obtidos reafirmam a falta de conhecimento sobre a diversidade desse grupo de algas, além de aspectos de sua morfologia e distribuição, não só em território nacional, mas em grande parte das áreas tropicais. Os registros de ocorrência produzidos nesse estudo devem contribuir com o conhecimento da diversidade de *Cephaleuros* e *Phycopeltis* e constituem base de informações para a implementação para trabalhos mais detalhados sobre a distribuição ecológica e biogeografia desses organismos.

6. Refêrencias bibliográficas

AKIYAMA, M. On some Brazilian species of Trentepohliaceae. **Memoirs of the Faculty of Education Shimane University. Natural Sciences**, v. 5, p. 81-95, 1971.

BROOKS, F.E. Plant-parasitic algae (Chlorophyta: Trentepohliales) in American Samoa. **Pacific Science**, v. 58, p. 419-428, 2004.

DASGUPTA, W.S.; BINDRA, A.S. Some biochemical changes induced in powdery mildew infected grape wine leaves. **Plant Disease**, v. 7, p. 248-58, 1992.

FAWCETT, H.S.; H.A. LEE. External spots, markings and eruptions. In: PIPER, C.V. **Citrus diseases and their control**. New York: McGraw-Hill, p. 440-524, 1926

HOLCOMB, G.E.; VANN, S.R.; BUCKLEY, J.B. First report of *Cephaleuros virescens* in Arkansas and its occurrence on cultivated blackberry in Arkansas and Louisiana. **Plant Disease**, v. 82, p. 263, 1998.

HOLMGREN, P.K.; HOLMEGREN, N.H. **Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff**. New York: New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, 1998.

KARSTEN, G. Untersüchungen über die Familie der Chroolepideen. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 10, p. 1-66, 1891.

KIEW, R. Herbaceous flowering plants. In: CRANBROOK, E. **Key Environments**. Oxford: Pergamon Press, p. 56-76, 1988.

KHRISHNAMURTHY, V. **Algae of India and neighbouring countries I**. Chlorophycota Enfield, New Hampshire, Science publishers, 2000.

LEMES-DA-SILVA, N.M.; BRANCO, L.H.Z.; NECCHI-JUNIOR, O. Corticolous green algae from tropical forest remnants in the northwest region of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, p. 215-226, 2010.

MILLARDET, A. De La germination dês zygospores genres *Closterium* et *Staurastrum* et sur genre nouveau d'algues Chlorospores. **Mémoires de La Societé de Sciences Naturalles de Strasbourg**, v.6, p.37-50, 1870.

NEUSTUPA, J. The genus *Phycopeltis (*Trentepohliales, Chlorophyta) from tropical Southeast Asia. **Nova Hedwigia**, v. 76, p. 487-505, 2003.

NEUSTUPA, J. Investigations on the genus *Phycopeltis* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from South-East Asia, including the description of two new species. **Cryptogamie, Algologie**, v. 26, p. 229-242, 2005.

PONMURUGAN, P.; SARAVANAN, D.; RAMYA, M. Culture and biochemical analysis of a tea algal pathogen, *Cephaleuros parasiticus.* **Journal of Phycology**, v. 46, p. 1017-1023, 2010.

PRINTZ, H. Subaerial algae from South Africa. Kongelige Norske Videnskabers **Selskab Skrifter**, v. 1, p. 3-41, 1921.

PRINTZ, H. Vorarbeiten zu einer Monographie der Trentepohliaceen. **Nytt Magasin for Naturvidenskapene**, v. 80, p. 137-210, 1939.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New and interesting records of *Trentepohlia* (Trentepohliales, Chlorophyta) from French Guiana, including the description of two new species. **Phycologia**, v. 46, p. 698-708, 2007.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Panama. **Nova Hedwigia**, v. 87, p. 421-444, 2008.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. The genus *Phycopeltis* (Trentepohliales, Chlorophyta) in Ireland: a taxonomic and distributional reassessment. Phycologia, v.41, p.421-431, 2002.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; CRITCHLEY, A.; AR GALL, E. The distribution of some species of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in France. **Cryptogamie, Algologie**, v. 24, p. 133-144, 2003.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New records of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Africa. **Nova Hedwigia**, v. 83, p. 431-449, 2006.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Panama. **Nova Hedwigia**, v. 87, p. 421-444, 2008.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Diversity and ecology of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in French Guiana. **Cryptogamie, Algologie**, v. 29, p. 13-43, 2008.

RINDI, F.; MENÉNDEZ, J.L.; GUIRY, M.D.; RICO, J.M. The taxonomy and distribution of *Phycopeltis* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) in Europe. **Cryptogamie, Algologie**, v. 25, p. 3-17, 2004.

RIVERO, T.; CASTELLANOS, L. Estudio de la nocividad del alga *Cephaleuros virescens* Kunze. **Fitosanidad**, vol. 8, p. 41-42, 2004

SARMA, P. The freshwater Chaetophorales of New Zealand. **Beih-efte zur Nova Hedwigia**, v. 58, p. 1-169, 1986.

SUTO, Y.; OHTANI, S. Morphology and taxonomy of the five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan, including three new species. **Phycologia**, v. 48, p. 213-236, 2009.

THOMPSON, R.H.; WUJEK, D. **Trentepohliales: *Cephaleuros, Phycopeltis*, and *Stomatochroon*. Morphology, Taxonomy, and Ecology.** India: Science Publishers, 1997. 149 p.

WHITTEN, T.; DAMANIK, S.J.; ANWAR, J.; HISYAM, N. **The ecology of Sumatra**. Singapure: Periplus, 2000, 478 p.

Capítulo IV

Padrões de distribuição da riqueza de Trentepohliales em biomas brasileiros

1. Resumo

Entre os grupos de algas que compõem a flora dos ambientes terrestres, a ordem Trentepohliales é um dos mais representativos e, em regiões tropicais, é considerado diversificado e abundante. Esse estudo tem como objetivos avaliar a riqueza e a composição de espécies de Trentepohliales em diferentes biomas, comparar a composição florística em relação à distância entre as áreas e relacionar as características ambientais com o padrão de distribuição das espécies. Amostras de Trentepohliales foram coletadas, entre os anos de 2009 e 2010, em seis áreas brasileiras (Parque Estadual da Serra do Mar, Parque Nacional de Itatiaia, região de Campos do Jordão, Parque Nacional da Serra da Canastra, Parque nacional da Chapada dos Veadeiros e fragmentos florestais do noroeste paulista) e, nos locais de ocorrência, foram tomados os valores de variáveis ambientais selecionadas (temperatura, umidade, irradiância e pH) para caracterização dos substratos. Foram encontradas diferenças na distribuição de espécies com relação às variáveis ambientais, sendo que algumas espécies se mostraram mais tolerantes a níveis maiores de temperatura e irradiância que outras. A análise da ocorrência das diferentes espécies revelou que alguns táxons foram bem distribuídos nas áreas estudadas, enquanto outros foram restritos a uma ou poucas áreas com características ecológicas semelhantes. Além disso, a riqueza de morfotipos de Trentepohliales mostrou-se relevantemente maior no interior de regiões ocupadas por floresta ombrófila densa.

2. Introdução

Os microrganismos fotossintetizantes que vivem em ambientes terrestres fazem parte de um conjunto muito heterogênico de organismos e que representa diversas linhagens evolutivas (RINDI et al, 2009). As algas verdes, juntamente com cianobactérias, são os grupos algais que obtiveram o maior sucesso na colonização desses ambientes, sendo os maiores representantes em número de espécies, embora outros grupos, como as Heterokontophyta, também sejam encontrados (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007). Dentre as algas verdes terrestres, a ordem Trentepohliales é um dos mais representativos e, em regiões tropicais, são considerados como os organismos mais diversos e abundantes (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

Poucos levantamentos com Trentepohliales em regiões tropicais, entretanto, têm sido desenvolvidos e resumem-se a alguns trabalhos na Austrália (CRIBB, 1958, 1963, 1968; DAY et. al., 1995; PHILLIPS, 2002), Índia (JOSE & CHOWDARY, 1980; PANIKAR & SINDHU, 1993; KRISHNAMURTHY, 2000), Indonésia (DE WILDEMAN, 1891) e África (RINDI et al., 2006). Mais recentemente, foram realizados levantamentos no Panamá (RINDI et al., 2008) e na Guiana Francesa (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008). No Brasil, dois estudos foram realizados no Parque Estadual Fontes do Ipiranga, SP (AKIYAMA, 1971; BICUDO & SANTOS, 2001) e um, abordando a flora de algas cortícolas em fragmentos de floresta estacional semidecidual do noroeste do estado de São Paulo, sendo as Trentepohliales os principais representantes dessa flora nesses ambientes (LEMES-DA-SILVA et al., 2010).

Os padrões de distribuição geográfica de algas terrestres são pobremente estudados e ainda pouco compreendidos, principalmente devido à falta de conhecimento da diversidade desses organismos (RINDI et al., 2009). Está bem documentado que florestas tropicais, altamente úmidas, são ambientes favoráveis ao desenvolvimento de algas terrestres (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007). As florestas

tropicais constituem um dos ecossistemas mais diversos do planeta, abrigando um grande número de táxons (MYERS et al. 2000; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007), tanto de animais quanto de vegetais, incluindo as Trentepohliales (RINDI & LÓPEZ-BAUTISTA, 2008; RINDI et al., 2008). Contudo, como já apontado, são bastante escassas as informações sobre a diversidade de Trentepohliales no território nacional. Assim, os padrões de riqueza e composição das comunidades de Trentepohliales nos biomas brasileiros, bem como os fatores que afetam esses padrões, não são conhecidos.

Segundo Barberousse et al. (2006), a disponibilidade de água e as condições de luz são os fatores limitantes para a ocorrência e crescimento de algas em ambientes terrestres. A disponibilidade de água está diretamente relacionada ao funcionamento fisiológico das células e à radiação solar, ao processo fotossintético. Dessa forma, mudanças na umidade atmosférica e/ou na qualidade de luz podem comprometer a sobrevivência dos organismos (BARBER & ANDERSSON, 1992).

Embora seja notável a elevada riqueza de Trentepohliales em florestas tropicais (RINDI & LOPEZ-BAUTISTA 2007; RINDI et al. 2008), os padrões de distribuição da riqueza dessa flora nos diferentes biomas brasileiros permanecem desconhecidos. Desta forma, os objetivos desse estudo foram: avaliar a riqueza e a composição de espécies de Trentepohliales em diferentes biomas e relacionar as características ambientais selecionadas com o padrão de distribuição das espécies.

3. Material e métodos

3.1. Área de estudo

Amostras de Trentepohliales foram coletadas, entre os anos de 2009 e 2010, em seis áreas distribuídas nas regiões centro-oeste e sudeste do Brasil: cerrado, nos estados de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra - PNSC) e Goiás

(Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros - PNCV), floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba - PESM) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia - PNI), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (região de Campos do Jordão - RCJ) e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista - FFNP).

Nas áreas de estudo, os crescimentos de Trentepohliales foram procurados visual e aleatoriamente em todos os substratos disponíveis (solo, rochas, caules e folhas) por caminhada livre realizada durante o dia, ao longo de, aproximadamente, três ou quatro (somente PESM) dias de atividades, contemplando os tipos vegetacionais presentes em cada bioma. Nos fragmentos florestais do noroeste paulista, foi realizada uma atividade de coleta, com duranção de um dia, em três áreas distintas (pertencentes ao municípios de Macaubal, União Paulista e Taquaritinga). Nas regiões do Parque Estadual da Serra do Mar e do Parque Nacional da Serra da Canastra, foram feitas observações e/ou coletas seguindo um gradiente altitudinal, a fim de avaliar a presença e ausência de espécies, segundo as alterações geradas pela variação de altitude. No PESM, a a área percorrida abrangeu atitudes de 0 a 800 metros, com amostragens realizadas a aproximadamente a cada elevação em 100 metros. No PNSC, as amostragens foram realizadas de 789 a 1473 metros de altitude, com intervalos de aproximadamente de 50 metros em cota.

No local de coleta de cada amostra, além da altitude e posicionamento global, foram avaliadas a irradiância (valores absolutos e relativos), pH do substrato e temperatura e umidade do ar. Como a energia luminosa é variável durante o dia, para uma melhor caracterização da quantidade de luz que atinge os organismos, foram feitas medições junto aos organismos e na área aberta mais próxima, utilizando quantômetro Li-Cor com sensor esférico. Dessa forma, além dos valores absolutos, a irradiância foi avaliada também pela proporção (%) de radiação que atingia os organismos em relação àquela em área aberta. O pH do substrato foi avaliado por meio da dissolução de parte do próprio material em água destilada e deionizada e

posterior leitura com papel indicador de pH (Merck). Valores de temperatura e umidade relativa do ar foram tomados (termo-higrômetro PeakTech 5090) junto às massas de algas encontradas.

3.2 Análise dos dados

A frequência de morfoespécies para cada localidade foi calculada por meio do número de ocorrência de cada uma delas pelo total de amostras coletadas em cada área, em porcentagem.

Para analisar e comparar a riqueza de Trentepohliales em cada localidade amostrada, foram confeccionadas curvas de rarefação de espécies em função do número de dias amostrados e do número de espécies por área, de forma a possibilitar a visualização da riqueza de espécies entre as comunidades, em níveis comparáveis de esforço amostral (GOTELLI & COLWELL, 2001). A ordem das amostras nas curvas foram aleatorizadas 1000 vezes, de modo que cada ponto da curva corresponde a média da riqueza acumulada nas 1000 curvas com desvio padrão associado. As curvas foram obtidas e aleatorizadas com auxilio do programa EstimateS 8.2.0 (COLWELL, 2006).

A similaridade na composição de espécies (identificadas morfologicamente) das Trentepohliales em cada localidade foi avaliada utilizando-se dados de presença/ausência por meio do índice de Jaccard, que varia de 0 (comunidades completamente dissimilares) a 1 (comunidades idênticas). Para melhor interpretação dos resultados, foi aplicada a análise de agrupamento utilizando-se diferentes algoritmos (método da média não ponderada - UPGMA, método de Ward e *single linkage*) para construção dos dendrogramas (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). As análises dos dados de similaridade foram realizadas considerando-se somente o dendrograma obtido por meio do método de UPGMA, pois esse apresentou o maior valor do índice correlação cofenético.

A influência da dimensão espacial nas comunidades foi abordada pela aplicação do teste de correlação de matrizes de Mantel, procurando-se avaliar a hipótese de que quanto maior a distância geográfica entre as localidades amostradas, maior é a diferença na composição das assembleias de Trentepohliales. As distâncias geográficas entre pares de localidades foram calculadas utilizando-se as coordenadas geográficas dos locais de coleta, corrigidas pela curvatura da Terra, utilizando o pacote FIELDS, aplicando a função *rdist.earth* (FURRER et al. 2011), utilizando o programa R (versão 2.15.1; R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

A influência das variáveis ambientais (pH, temperatura, irradiância, umidade e tipo de formação vegetacional) na distribuição das espécies nas diferentes localidades amostradas foi avaliada pela Análise de Correspondência Canônica (CCA; TER BRAAK, 1986).

4. Resultados

4.1. Composição de espécies e riqueza das áreas amostradas

Nas áreas amostradas, foram encontradas 33 morfoespécies de Trentepohliales (Tabela 1). A maior riqueza observada foi encontrada no PESM, com 20 morfoespécies (60,6% do total), seguida pelo PNI, com 16 (48,5%), RCJ com nove (27,3%), FFNP com oito (27,3%), PNSC com sete (21,0%) e PNCV com apenas uma (3,0%). *Trentepohlia* sp.1 foi a mais frequente, sendo registrada em cinco das seis áreas amostradas, enquanto 51,5% das morfoespécies foram registradas em uma única localidade.

A curva de rarefação foi obtida com os dados de amostragem de apenas cinco áreas, pois foi excluído o PNCV que apresentou registro de uma única espécie. O resultado mostra que as áreas de floresta ombrófila densa (PNI e PESM) apresentam padrão similar de riqueza de Trentepohliales e são mais ricos em morfoespécies que as demais áreas (Figura 1). O Parque Nacional da Serra da Canastra, os fragmentos

florestais do noroeste paulista e a região de Campos do Jordão não diferem entre si quanto aos valores de riqueza de Trentepohliales.

Tabela 1. Frequência de ocorrência das morfoespécies de Trentepohliales nas amostras obtidas entre 2009 e 2010 no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Parque Nacional de Itatiaia (PNI), região de Campos do Jordão (RCJ), fragmentos florestais do noroeste paulista (FFNP), Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) e Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (PNCV).

Táxons	**PESM**	**PNI**	**RCJ**	**FFNP**	**PNSC**	**PNCV**
Cephaleuros cf. *karstenii*	0	0	0	5,1	0	0
C. cf. *parasiticus*	0	0	0	0	39,4	100,0
Cephaleuros sp.1	3,0	0	2,8	23,1	0	0
*Phycopeltis amboinensis**	1,5	2,0	0	0	0	0
P. arundinacea	4,5	8,3	2,8	17,9	0	0
P. cf. *arundinacea*	0	2,0	0	0	6,0	0
*P. epiphyton**	3,0	0	0	0	0	0
P. cf. *flabellata**	3,0	0	0	0	0	0
*P. pilosa**	1,5	2,0	0	0	0	0
*P. treubii**	0	2,0	0	0	0	0
P. cf. *vaga**	3,0	2,0	0	0	0	0
Phycopeltis sp.1	4,5	2,0	0	0	0	0
Phycopeltis sp.2	1,5	0	0	0	0	0
*P. lagenifera**	1,5	2,0	0	0	0	0
Printzina sp.1	0	2,0	0	0	0	0
Printzina sp.2	0	2,0	0	0	0	0
Printzina sp.3	1,5	0	0	7,7	0	0
Cf. *Printzina*	0	2,0	0	0	0	0

*Novos ou possíveis novos registros para o Brasil.

Tabela 1. (Cont.)

Táxons	**PESM**	**PNI**	**RCJ**	**FFNP**	**PNSC**	**PNCV**
Trentepohlia abietina	7,6	4,2	8,5	7,7	0	0
T. abietina var. *tenue**	4,5	0	11,4	0	3,0	0
T. arborum	30,3	14,5	0	0	9,0	0
T. aurea	0	20,8	37,0	20,5	15,0	0
T. cf. *chapmanii**	1,5	0	0	0	0	0
*T. depressa**	3,0	0	0	0	0	0
T. dusenii	0	0	2,8	0	0	0
*T. cf. iolithus**	0	0	2,8	0	0	0
T. monilia	0	0	0	2,6	0	0
*T. odorata**	3,0	6,2	0	0	0	0
T. peruana	1,5	0	0	0	0	0
T. cf. *rigidula*	0	0	2,8	0	0	0
*T. umbrina**	0	0	0	0	15,0	0
Trentepohlia sp.1	3,0	18,7	2,8	7,7	6,0	0
Trentepohlia sp.2	1,5	0	0	0	0	0

*Novos ou possíveis novos registros para o Brasil.

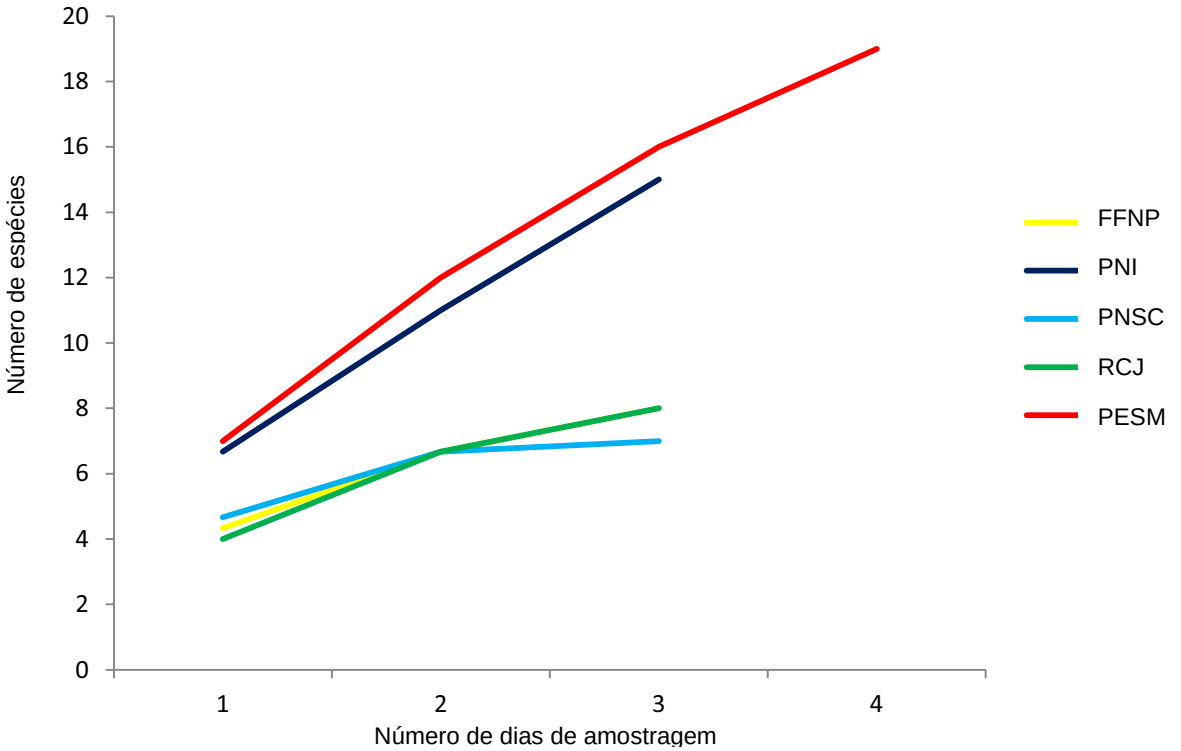


Figura 1. Curva de rarefação da riqueza de Trentepohliales nas áreas amostradas entre 2009 e 2010.

O dendrograma da similaridade na composição da flora de Trentepohliales formou dois agrupamentos (Figura 2). O grupo A foi formado pelas áreas de Campos do Jordão e os fragmentos florestais do noroeste paulista, que foram as mais similares entre si. A área do PNSC posicionou-se próxima a esse grupo, mas com menor afinidade na composição. No outro agrupamento, B, encontram-se as regiões de floresta ombrófila densa (PESM e PNI), com aproximadamente 30% de similaridade florística entre si (Figura 2). O PNCV foi a mais discrepante entre todas as áreas amostradas e posicionou-se distante das demais.

O teste de Mantel demonstrou que parte da diferença na composição das comunidades de Trentepohliales pôde ser explicada pela distância entre as localidades ($r = 0,74$, $p = 0,05$). Sendo que, quanto maior a distância geográfica entre as áreas, maior a diferença na composição das comunidades.

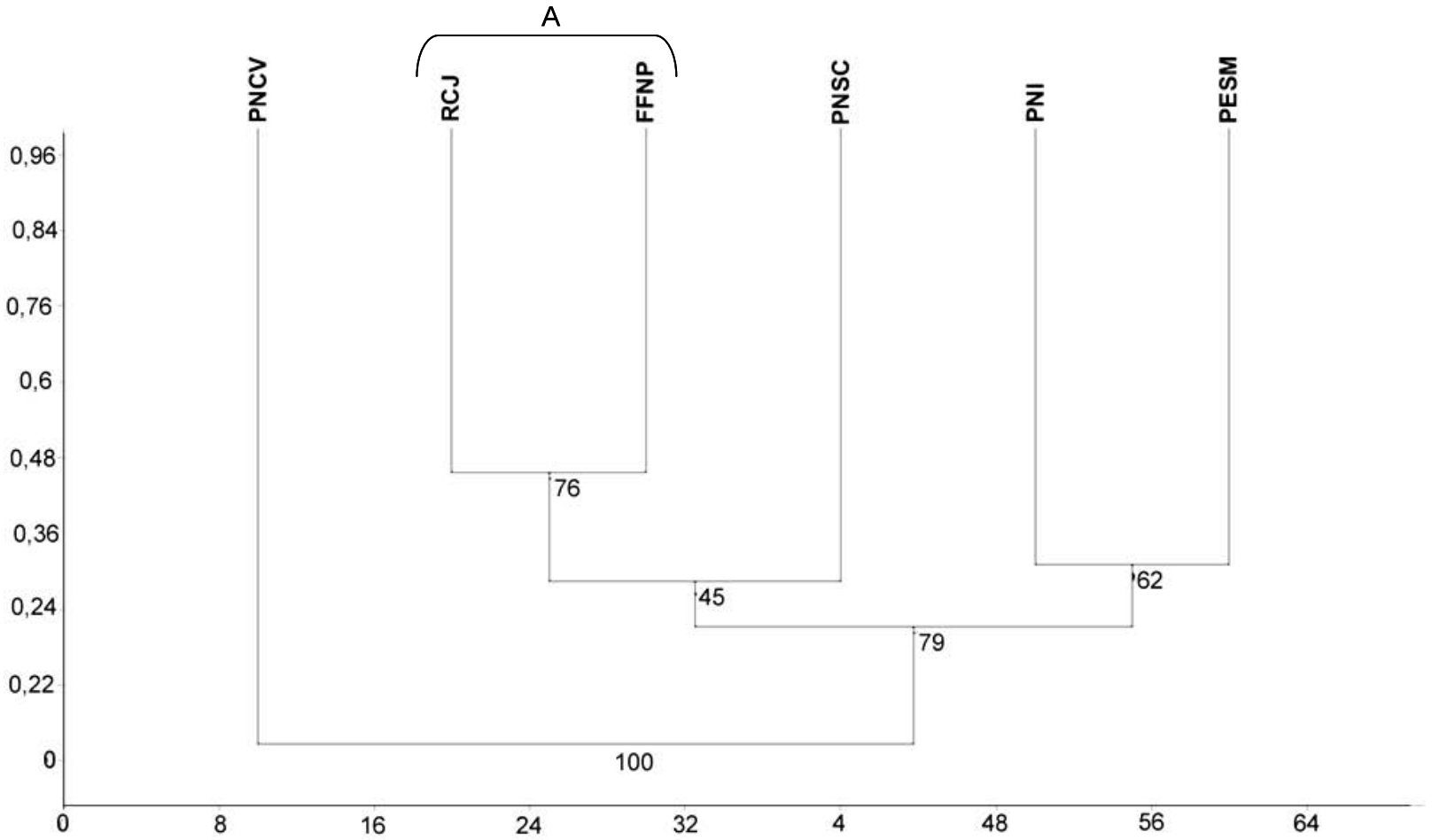


Figura 2. Dendrograma de similaridade na composição florística de Trentepohliales das áreas amostradas. (PESM - Parque Estadual da Serra do Mar; PNI - Parque Nacional de Itatiaia; RCJ - Parque Estadual de Campos do Jordão; FFNP - fragmentos florestais do noroeste paulista; PNSC – Parque Nacional da Serra da Canastra; PNCV – Parque Nacional Chapada dos Veadeiros).

4.2. Variáveis ambientais e distribuição das espécies

A maioria das espécies de Trentepohliales foi encontrada em ambientes com temperatura variando entre 15 e 30°C. Algumas foram registradas em temperaturas mais elevadas, como por exemplo, *C*. cf. *parasiticus*, registrados em ambientes entre 20 e 40°C, enquanto outras foram encontradas registradas em áreas com temperaturas mais baixas, como *T*. *odorata* (6 a 16°C) (Figura 3).

A distribuição das espécies de Trentepohliales variou em relação ao pH do substrato, sendo que a maioria das espécies foi encontrada crescendo em pH ácido (5,0), com faixa de variação entre 3,0 e 7,0, podendo atingir pH mais ácido a neutro, não tendo sido encontradas espécies em *micro-habitats* com pH básico (Figura 4).

Com relação à irradiância, observa-se que a maioria das espécies consegue sobreviver tanto em áreas sombreadas quanto ensolaradas (Figura 5). A maioria das espécies de *Phycopeltis* ocorreu somente no interior da mata, sendo distribuídas por uma faixa de irradiância mais restrita. Grande parte das espécies de *Trentepohlia* ocorreu majoritariamente em áreas abertas, com médias de porcentagem de irradiância mais elevadas (acima de 50%).

A maioria das espécies (87,9%) foi observada em ambientes com umidade acima de 50%. Algumas, como *T. abietina*, *T. aurea* e *T. odorada*, também foram encontradas em ambientes mais secos, mas sempre com umidade acima de 40% e *C*. cf. *parasiticus* foi registrada somente em áreas de cerrado e em locais com umidade atmosférica desde 37% (Figura 6).

Considerando que, na região do PESM, as coletas utilizadas para as análises de gradiente altitudinal foram realizadas em área de borda da mata, a altitude não mostrou influências nas características ambientais analisadas. A distribuição de espécies mostrou-se constante, com *Trentepohlia arborum* aparecendo por todo o gradiente. Já, na região do PNSC, a extensão altitudinal apresentou variação na umidade relativa do ar, com valores de umidade atmosférica menores em atitudes mais elevadas. Em altitudes maiores, acima de 1000 metros, a média de umidade

atmosférica foi de 55,4%, enquanto nas observações realizadas em áreas abaixo de 1000 metros, a média foi de 67,9%. A análise de flora revelou que, *C.* cf. *parasiticus* foi observada em toda a extensão amostrada na área de cerrado, sempre associada à presença de *Kielmeyera* sp. (hospedeira), embora outras espécies não tenham sido observadas nas regiões mais altas.

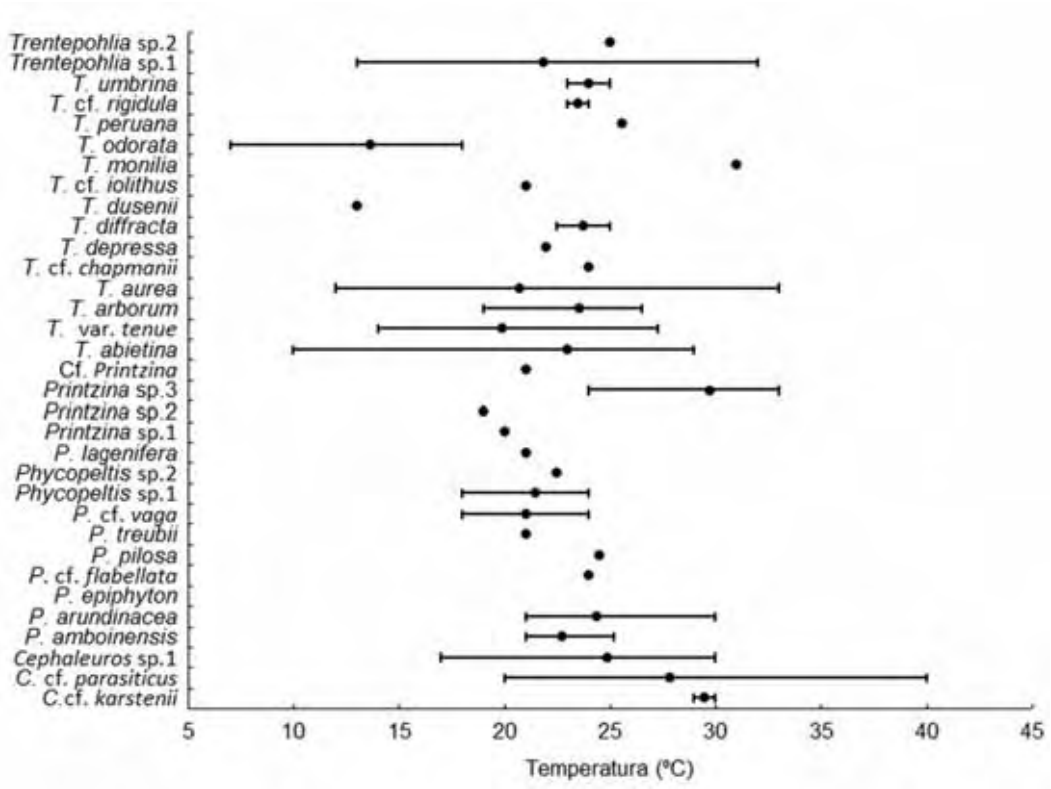


Figura 3. Ocorrência das espécies com relação à temperatura. (pontos = média, barras = valores mínimos e máximos).

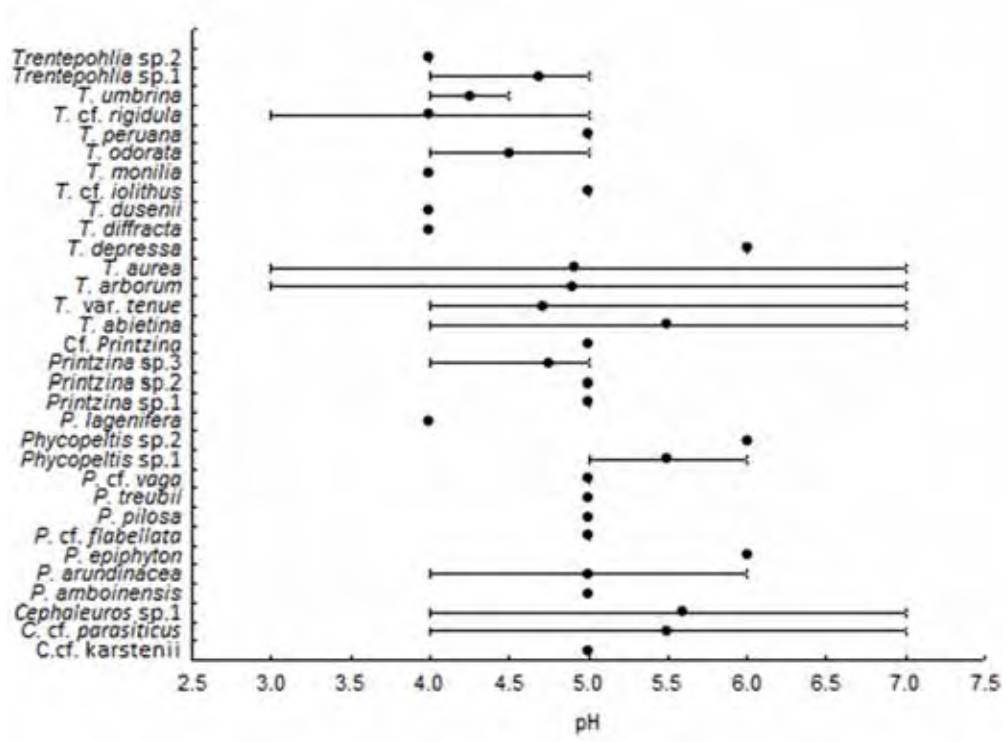


Figura 4. Ocorrência das espécies com relação ao pH do substrato. (pontos = média, barras = valores mínimos e máximos).

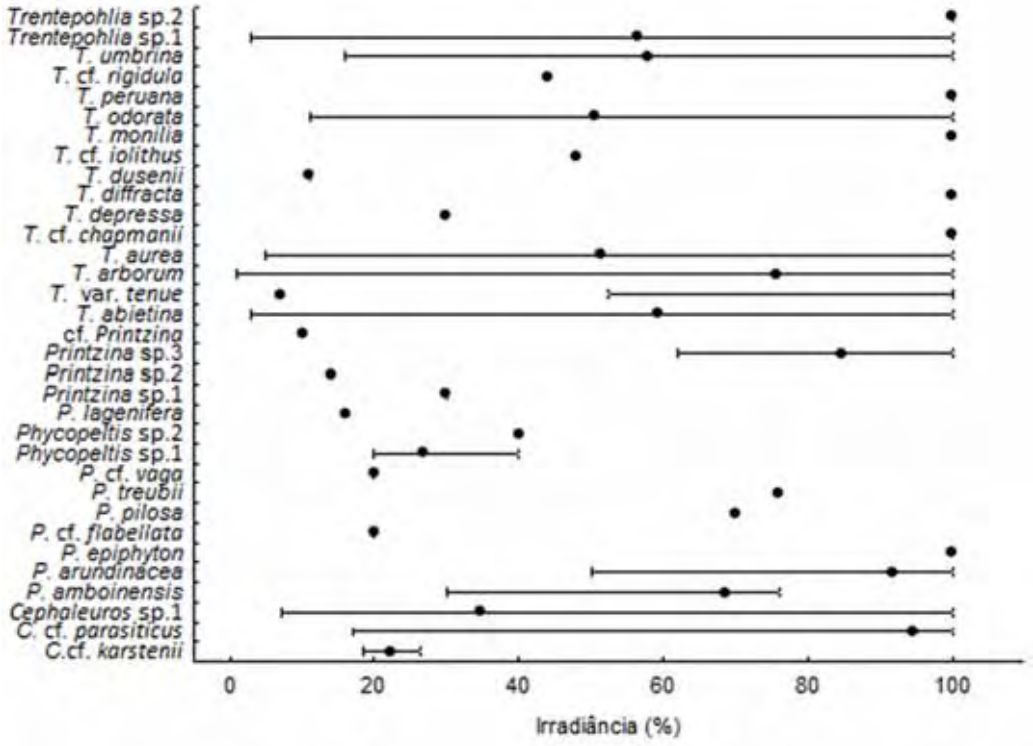


Figura 5. Ocorrência das espécies com relação à irradiância relativa. (pontos = média, barras = valores mínimos e máximos).

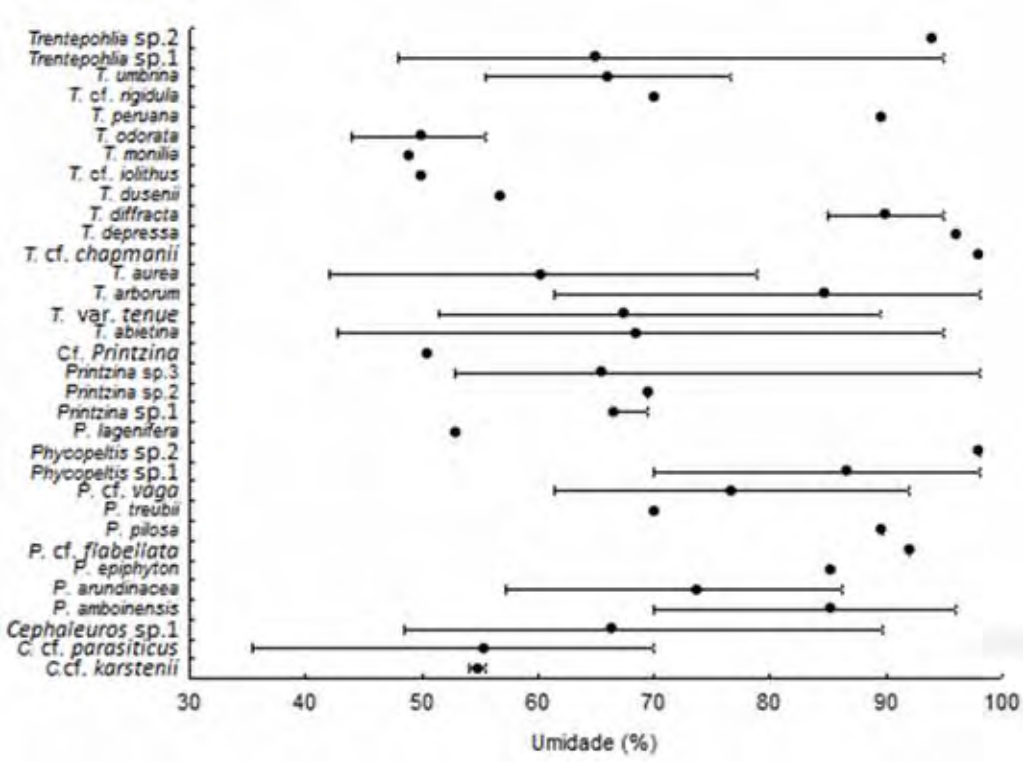


Figura 6. Ocorrência das espécies com relação à umidade atmosférica. (pontos = média, barras = valores mínimos e máximos).

A Análise de Correspondência Canônica mostrou que a distribuição das espécies foi mais influenciada pelo tipo de vegetação presente nas áreas amostradas (Figura 7). Temperatura, irradiância e umidade atmosférica tiveram os maiores valores de explicabilidade para a distribuição das espécies, enquanto a altitude foi a variável menos influente (Tabela 2). As espécies que aparecem sobrepostas aos nomes das localidades foram aquelas que ocorreram apenas nesses locais, já as espécies distribuídas pela área do gráfico sem sobreposição de localidades ocorreram em mais de uma área. A umidade atmosférica é a variável que melhor explica a distribuição das espécies encontradas somente em áreas de floresta ombrófila densa (PESM e PNI).

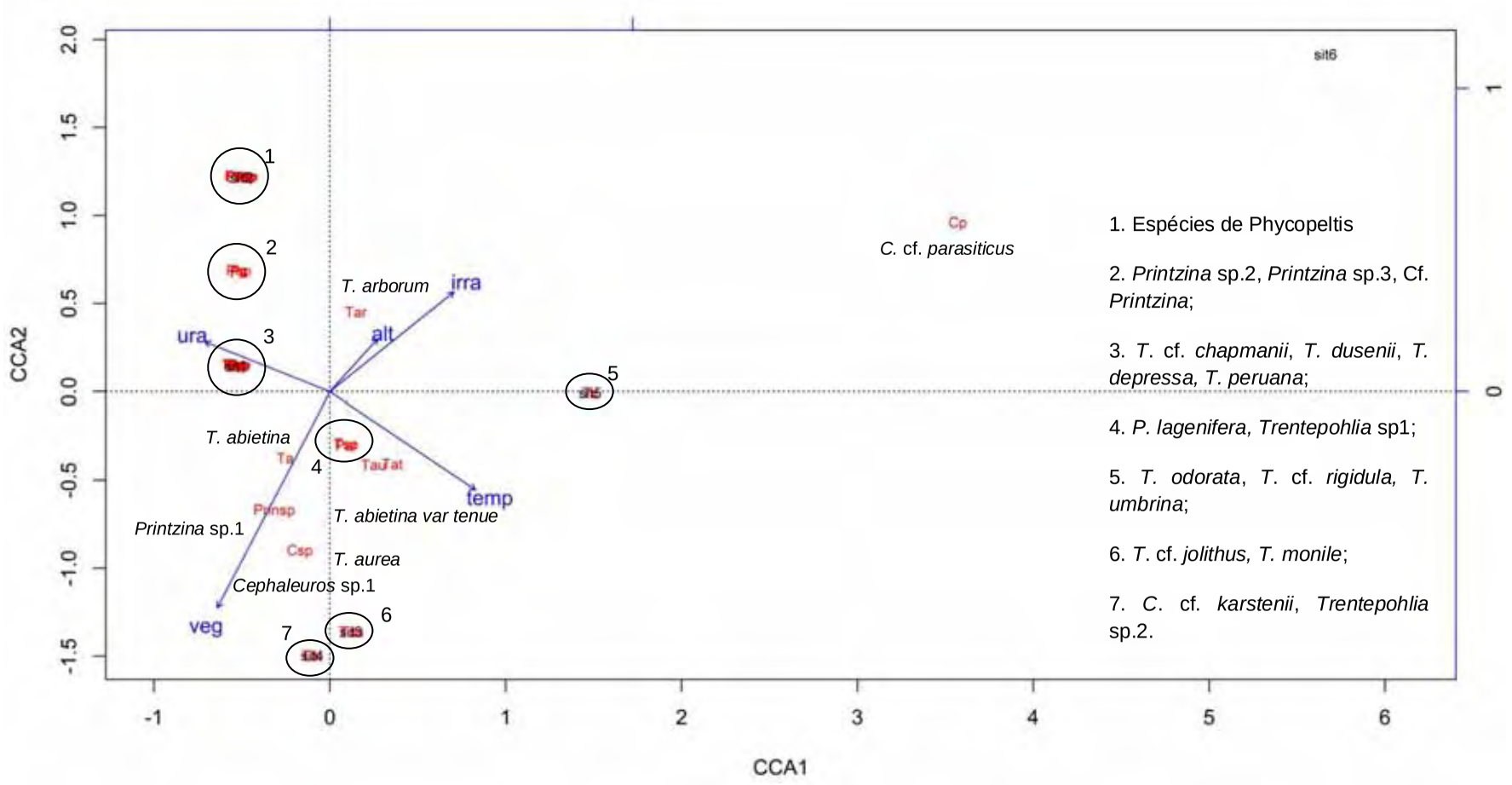


Figura 7. Localização das espécies Trentepohliales e das localidades amostradas em um espaço definido por dois eixos derivados da Análise de Correspondência Canônica, mostrando a relação entre a composição de espécies e as variáveis ambientais. Abreviações: Temp = temperatura; Veg = vegetação; ura = umidade relativa do ar; alt = altitude; irra = irradiância.

Tabela 2. Valores dos eixos da Análise de Correspondência Canônica.

	Autovalores	Temperatura	Irradiância	URA*	Altitude
Eixo 1	0.55128	0,782946	-0,224601	0,852314	-0,5056
Eixo 2	0.46749	0,149323	0,57176	-0,611954	-0,58298
Eixo 3	0.37524	-0,334606	0,876162	-0,187011	0,022177
Eixo 4	5.5879E-05	0,775423	-0,16852	0,736518	-0,18314

*URA = Umidade relativa do ar.

5. Discussão

Nesse estudo, foram registradas 33 espécies de Trentepohliales nas seis áreas amostradas. As regiões de floresta ombrófila densa apresentaram maior riqueza de espécies, enquanto áreas de cerrado foram as mais pobres em diversidade. Além disso, as áreas apresentaram diferenças na composição da flora e a maioria das espécies apresentou um padrão de distribuição restrita, ocorrendo em uma única localidade.

Como esperado, os ambientes de florestas ombrófilas densas abrigam uma maior riqueza de Trentepohliales, enquanto ambientes de cerrado e floresta estacional semidecidual apresentaram baixa riqueza de espécies. A diferença na riqueza dessas localidades pode ser atribuída às condições climáticas existentes, pois áreas de floresta ombrófila densa possuem temperaturas mais amenas (média de temperatura no PESM = 24,0°C e no PNI = 18,6°C) e elevada umidade atmosférica (média de umidade relativa do ar no PESM = 95% e no PNI = 70%) em comparação com as áreas de cerrado e floresta estacional semidecidual. No PNCV, em especial, foram registrados os menores valores de umidade relativa do ar observados neste estudo e também a menor riqueza, com apenas uma espécie registrada. Deste modo, as condições ambientais encontradas nas áreas de floresta ombrófila densa são mais favoráveis ao desenvolvimento de Trentepohliales (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007). As Trentepohliales são amplamente distribuídas em regiões com climas úmidos (LÓPEZ-

BAUTISTA et al., 2007) e a maioria dos estudos realizados em regiões tropicais revelou alta diversidade de organismos, além da descoberta de novas espécies, indicando que florestas tropicais são centros de diversidade, concentrando grande parte da riqueza e abundancia desses organismos (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

A composição florística de Trentepohliales diferiu entre os parques amostrados, sendo que uma parcela representativa das espécies (36%) apresentou um padrão de distribuição restrito a uma única localidade. As regiões com vegetação mais densa, e consequentemente menor irradiância e maior umidade, como floresta ombrófila densa, apresentam uma maior similaridade na composição de Trentepohliales.

Parte da diferença na composição de espécies de Trentepohliales pode ser explicada pela distância entre as áreas amostradas. Foi verificado que quanto maior a distância entre as localidades maior é a diferença na composição de espécies. Essa relação era esperada, pois quanto maior a distância entre duas localidades, maior será a variação ambiental (*e.g.*, climática) existente entre as localidades, além de limitar a dispersão dos organismos entre as localidades, resultando numa maior variação na composição (NEKOLA & WHITE, 1999). Essa relação direta da distância com a similaridade na composição já foi observada em diversos estudos realizados com diferentes organismos e escalas, como diatomáceas (WETZEL et al., 2012), plantas (TUOMISTO et al., 2003) e anfíbios (GAREY & SILVA, 2010). De qualquer modo, esse é o primeiro trabalho a evidenciar que a existência de um padrão de diminuição da similaridade na composição de espécies de Trentepohliales com o aumento da distância geográfica, sendo que as áreas com condições ambientais mais semelhantes tendem a estar mais próximas geograficamente e a ter um composição de espécies mais similar.

Dos fatores ambientais que influenciam o crescimento e desenvolvimento de algas aerofíticas, como as Trentepohliales, a intensidade luminosa e a umidade são apontados como os mais importantes (FRITSCH, 1907; ISLAM, 1960). Neste estudo, foi observado que ambientes com menor intensidade luminosa e maior umidade

tenderam a abrigar uma maior riqueza de espécies. Neustupa e Škaloud (2008) verificaram que a intensidade luminosa foi o fator mais importante na riqueza e composição das algas e cianobactérias corticícolas em regiões montanhosas da Indonésia, sendo que as Trentepohliales (de tronco) foram encontradas em micro-*habitats* não sombreados. Entre os biomas agora estudados, foi observado que os locais de florestas fechadas são relativamente pobres na frequência e abundância de crescimentos de Trentepohliales filamentosas, prevalecendo os organismos pseudoparenquimatosos, crescendo sobre folhas. Alguns táxons foram típicos de ambientes fechados, como muitas das espécies de *Phycopeltis*, que ocorreram no interior de florestas (ambientes sombreados e altamente úmidos). A ocorrência de *Phycopeltis* preferencialmente em *habitats* sombreados e úmidos também já foi observada em um estudo realizado em outra área de floresta ombrófila densa (Rindi & López-Bautista 2008). Por outro lado, alguns organismos foram observads majoritariamente em áreas abertas, como, por exemplo, *T. abietina* var. *tenue,* e são provavelmente organismos tolerantes a níveis mais elevados de irradiância e, em alguns casos menor umidade, como *Cephaleuros* cf. *parasiticus*, que foi encontrado com alta frequência em áreas de cerrado.

Cephaleuros cf. *parasiticus* foi encontrada somente em áreas de cerrado, sendo a única espécie observada no PNCV. Esta espécie foi registrada sempre ocorrendo em folhas de *Kielmeyera* sp. (Clusiaceae; Figura 8), uma planta típica de áreas mais abertas de cerrado (NARDOTO et al., 1998) e frequente na área amostrada. *Cephaleuros* cf. *parasiticus* vive na região subcuticular das folhas e é considerada parasita, causando lesões graves no hospedeiro, sendo que em alguns casos a infecção se torna tão severa, que as folhas morrem completamente (THOMPSON & WUJEK, 1997). Esses organismos retiram água e nutrientes da folha da planta hospedeira e a ocupação desse *micro-habitat* permite que essa alga ocorra em ambientes mais severos, como é o caso do cerrado, caracterizado por altas irradiâncias e temperaturas e baixa umidade atmosférica.

Figura 8. Exemplar de *Kielmeyera* sp. (Clusiaceae), encontrada em áreas de cerrado brasileiro e detalhe da folha, onde foram encontrados espécimes de *C.* cf. *parasiticus*.

Trentepohlia arborum também foi amplamente encontrada em áreas abertas, nos entanto, essa espécie possui uma exigência alta em relação à umidade atmosférica, sendo, portanto, muito frequente em áreas de borda de florestas ombrófilas, que possuem elevada irradiância e umidade, em comparação a regiões de cerrado, onde foi menos frequente. *Trentepohlia arborum* não foi registrada para áreas com altitude superior a 800 metros, na área do PNSC. O mesmo pode ser observado para o Parque Nacional de Itatiaia, onde *T. arborum* foi registrada para área de floresta ombrófila densa, porém não foi observada em região de campo de altitude (1795 a 2542 metros).

Apesar da influência da temperatura ser menos abordada que a umidade e irradiância para a distribuição de Trentepohliales, nesse estudo a maior parte de populações de Trentepohliales foi registrada entre 16 e 32°C, com populações ocorrendo em extremos de 4 ou 40°C. Foi observada nesse estudo uma relação entre essa variável com *T. aurea* e *T. abietina* var *tenue,* em especial, *T. abietina* var *tenue* foi registrada com alta frequência em locais com temperatura mais baixas (*e.g*., região Campos do Jordão). Já, considerando o pH, embora as Trentepohliales, nesse estudo, tenham sido coletadas em uma ampla variedade de substratos, esses

apresentaram sempre valores ácidos ou neutros (3 - 7), nunca atingindo valores básicos. Não foram encontrados na literatura referências à esses dados para a comparação, sendo que as informações geradas nesse estudo, poderão ser utilizadas para comprações futuras de dados gerados posteriormente.

Em síntese, os dados obtidos revelaram a existência de um padrão na distribuição da diversidade de Trentepohliales. As localidades de floresta ombrófila densa tendem a apresentar uma maior riqueza, devido, principalmente, aos fatores umidade e luz. A diversidade de Trentepohliales em regiões quentes e úmidas já foi alvo de estudos (p. ex. RINDI & LOPEZ-BAUTISTA, 2008), mas este foi estudo mais abrangente já realizado na região neotropical, por englobar diferentes regiões geográficas com uma ampla variação ambiental, visando analisar a distribuição da riqueza e composição de espécies. Apesar disso, ainda são necessários mais estudos com um maior esforço de coleta, amostrando mais localidades, para verificar se o padrão observado no presente estudo se repete, e para posteriormente tentar entender quais processos influem esse padrão de maior diversidade em florestas ombrófilas densa.

6. Referências bibliográficas

AKIYAMA, M. On some Brazilian species of Trentepohliaceae. **Memoirs of the Faculty of Education Shimane University. Natural Sciences**, v. 5, p. 81-95, 1971.

BARBER, J.; ANDERSSON, B. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 17, p. 61-66, 1992.

BARBEROUSSE, H.; LOMBARDO, R.J.; TELL, G.; COUTÉ, A. Factors involved in the colonization of building façades by algae and cyanobacteria in France. **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v. 22, p. 69-77, 2006.

BICUDO, C.E.M.; SANTOS, C.I. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 15: Chlorophyceae (Trentepohliales). **Hoehnea**, v. 28, p. 183-190, 2001.

COLWELL, R. K. **EstimateS: Statistical estimation of species richness and share species from samples**. Version 8.2.0., 2006.

CRIBB, A.B. The genus *Trentepohlia* in south-eastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 3, p. 193-201, 1958a.

CRIBB, A.B. Further records of *Trentepohlia* from southeastern Queensland. **University of Queensland Papers, Department of Botany**, v. 4, p. 75-81, 1963.

CRIBB, A.B. Some Trentepohlias new to Australia. **Phykos**, v. 7, p. 3-8, 1968.

DAY, S.A.; WICKHAM R.P.; ENTWISTLE, T.J.; TYLER, P.A. Bibliographic check-list of non-marine algae in Australia. **Flora of Australia supplementary series**, v.4, p.1-276, 1995.

DE WILDEMAN E. Les *Trentepohlia* des Indes Neerlandaises. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 9, p. 127–142, 1891.

FRITSCH, F. The subaerial and freshwater algal flora of the tropics. A phytogeographical and ecological study. **Annals of Botany**, v.21, p. 235-275, 1907.

FURRER, R.; NYCHKA, D.; SAIN, S. **Fields: Tools for spatial data**. R packages version 6.6.3., 2011.

GAREY, M.V.; SILVA, V.X.D. Spatial and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape in the Atlantic semi-deciduous forest of southeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology***,* v. 5, p. 64-72, 2010.

GOTELLI, N.J.; COLWELL, R.K. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology Letters**, v. 4, p. 379-391, 2001.

ISLAM, N. Some subaerial green algae from East Pakistan. **Transactions of the American Microscopical Society**, v. 79, p. 471-479, 1960.

JOSE, G.; CHOWDARY, Y.B.K. New records of *Trentepohlia* from India. **Nova Hedwigia**, v. 32, p. 725–731, 1980.

KHRISHNAMURTHY, V. **Algae of India and neighbouring countries I**. **Chlorophycota**. Enfield, New Hampshire, Science Publishers, 2000.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, LF.J. **Numerical Ecology**. Amsterdam: Elsevier. 1998. 870p.

LEMES-DA-SILVA, N.M.; BRANCO, L.H.Z.; NECCHI-JÚNIOR, O. Corticolous green algae from tropical forest remnants in the northwest region of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, p. 215-226, 2010.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; CASAMATA, D.A. The systematics of subaerial algae. In: SECHBACH, J. **Cell origin, Life in Extreme habitats and Astrobiology. Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments.** Netherlands: Springer, v. 11, p. 601-617, 2007.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.; MITTERMEIER, C.; DA FONSECA, G.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NARDOTO, G.B.; SOUZA, M.P.; FRANCO, A.C. Estabelecimento e padrões sazonais de produtividade de *Kielmeyera coriacea* (Spr) Mart. nos cerrados do Planalto Central: efeitos do estresse hídrico e sombreamento. Revista Brasileira de Botânica [online], vol.21, ISSN 0100-8404, 1998.

NEKOLA, J.C.; WHITE, P.S. The Distance Decay of Similarity in Biogeography and Ecology. **Journal of Biogeography**, v. 26**,** p. 867-878, 1999.

NEUSTUPA, J.; ŠKALOUD, P. Diversity of subaerial algae and cyanobacteria on tree bark in tropical mountain habitats. **Biologia**, v. 63, p. 806-812, 2008.

PANIKKAR, M.V.N.; SINDHU, P. Species of *Trentepohlia* from Kerala. **Journal of Economic Taxonomic Botany**, v. 17, 199–204, 1993.

PHILLIPS, J.A. Algae. In: HENDERSON, R.J.F. **Names and distribution of Queensland plants, algae and lichens.** Brisbane: Queensland Government Environmental Protection Agency, p. 228-244, 2002.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing, reference index version 2.15.1**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2012.

RINDI, F.; ALLALI, H.A.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. An overview of the biodiversity and biogeography of terrestrial green algae. In: RESCIGNO, V.; MALETTA, S. **Biodiversity Hotspots**. New York: Nova Science Publishers, p 105-22, 2009.

RINDI, F.; GUIRY, M.D.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New records of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Africa. **Nova Hedwigia**, v. 83, p. 431–449, 2006.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Panama. **Nova Hedwigia**, v. 87, p. 421–444, 2008.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. New and interesting records of Trentepohlia (Trentepohliales, Chlorophyta) from French Guiana, including the description of two new species. **Phycologia**, v. 46, p. 698-708, 2007.

RINDI, F.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Diversity and ecology of Trentepohliaceae (Trentepohliales, Chlorophyta) in French Guiana. **Cryptogamie, Algologie**, v. 29, p. 13-43, 2008.

TER BRAAK, C.J.F. Canonical Correspondence Analysis: A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. **Ecology**, v. 67, p. 1167-1179, 1986.

THOMPSON, R.H.; WUJEK, D. **Trentepohliales: *Cephaleuros, Phycopeltis*, and *Stomatochroon*. Morphology, Taxonomy, and Ecology.** India: Science Publishers, 1997. 149 p.

TUOMISTO, H.; RUOKOLAINEN, K.; YLI-HALLA, M. Dispersal, Environment, and Floristic Variation of Western Amazonian Forests. **Science**, v. 299, p. 241-244, 2003.

WETZEL, C.E.; BICUDO, D.D.C.; ECTOR, L.; LOBO, E.A., SOININEN, J., LANDEIRO, V.L.; BINI, L.M. Distance decay of similarity in neotropical diatom communities. **Plos One**, v. 7, p. 1-8, 2012.

Capítulo V

Cultivos artificiais de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) de biomas brasileiros

1. Resumo

A utilização de cultivos de organismos em meio e condições artificiais tem sido empregada na tentativa de esclarecer algumas questões relativas à biologia das Trentepohliales, como o histórico de vida, estudos de patogenicidade, variações morfológicas e estudos moleculares. Esse estudo teve como propósito, o estabelecimento de cultivos artificiais de espécimes de Trentepohliales, objetivando comparar a morfologia dos organismos sob condições artificiais com a morfologia das amostras obtidas em campo, além da obtenção amostras unialgais para sua utilização em estudos moleculares. Amostras de Trentepohliales provenientes de seis regiões brasileiras foram inoculadas em meio artificial para isolamento, crescimento e estudos complementares. Quatro tipos de meios artificiais foram utilizados: Bold e água-solo, nas formas liquida e sólida. Entre as características morfológicas mais notáveis, esses organismos apresentaram comprimento celular maior que as populações de campo e pouca quantidade de carotenoides. Os organismos também tiveram crescimento lento e, grande parte das amostras em meio artificial, foram altamente contaminadas, em especial por organismos eucariotos (outras algas verdes e fungos filamentosos). Apesar da falta de sucesso em alcançar cultivos unialgais, o registro das características das amostras mantidas em cultura constitui mais um dado importante no estudo das Trentepohliales, sendo esse resultado um dos poucos disponíveis para material de regiões tropicais.

2. Introdução

Trentepohliales é uma ordem de algas estritamente terrestres, as quais são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (CHAPMAN, 1984; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002). Assim como outros grupos de algas que habitam o ambiente terrestre, a habilidade desses organismos para colonização está relacionada à sua alta tolerância e adaptabilidade a condições extremas, tais como a dessecação (FRITSCH, 1922).

Embora aspectos da biologia de alguns membros desse grupo, como por exemplo, morfologia, distribuição, reprodução (PRINTZ, 1939; RINDI & GUIRY, 2002), fisiologia (HOWLAND, 1929; TAN et al., 1993; ABE et al., 1993), fotossíntese (HO et al., 1983; ONG et al., 1992) e ultraestrutura (CHAPMAN & GOOD, 1978) tenham sido estudados, alguns aspectos da biologia desses organismos ainda não estão completamente elucidados. Aliado a esse desconhecimento, sabe-se que essas algas possuem características morfológicas variáveis de acordo com as condições ecológicas (RINDI & GUIRY, 2002).

Cultivos de organismos em meio e condições artificiais têm sido utilizados na tentativa de esclarecer algumas questões relativas à biologia das Trentepohliales, como o ciclo de vida (RINDI & GUIRY, 2002, RINDI et al., 2005) e estudos de patogenicidade (PONMURUGAN et al., 2010) e variações morfológicas (RINDI & GUIRY, 2002), além disso, muitos estudos moleculares utilizam amostras provenientes de culturas artificiais.

Algumas características ecológicas e fisiológicas tornam o isolamento e manutenção desses organismos em condições artificiais difícil, considerando que esses crescem em variados tipos de substratos misturados com outros organismos, como briófitas, fungos, bactérias e outras algas. Desta forma, na maior parte pd casos, os inóculos provenientes de amostras naturais não estão isolados de outros organismos (LIM et al., 1992), dificultando a obtenção de culturas unialgais, mesmo após o procedimentos de limpeza das amostras. Outro problema com a obtenção de

culturas de Trentepohliales está relacionado ao tempo de crescimento dos organismos. Em geral, essas algas possuem crescimento muito lento em condições artificiais (RINDI & GUIRY, 2002) e, geralmente, os organismos contaminantes, em especial fungos e bactérias, possuem tempo de crescimento menor, o que faz com que essa biomassa se sobressaia em relação à biomassa de Trentepohliales (LIM et al., 1992).

Apesar da dificuldade relatada para o estabelecimento de cultivos artificiais com membros de Trentepohliales, essa abordagem, adicionada a análises morfológicas e moleculares, é importante para o entendimento de aspectos problemáticos do grupo.

Assim, o estudo a partir do estabelecimento de cultivos artificiais de espécimes de Trentepohliales foi realizado com a finalidade de comparar a morfologia dos organismos sob condições artificiais com a morfologia das amostras obtidas em campo.

3. Material e métodos

Amostras de Trentepohliales provenientes de cerrado, no estado de Minas Gerais (Parque Nacional da Serra da Canastra - PNSC) e floresta ombrófila densa, nos estados de São Paulo (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba - PESM) e Rio de Janeiro (Parque Nacional de Itatiaia - PNI), floresta ombrófila mista, no estado de São Paulo (região de Campos do Jordão - RCJ) e floresta estacional semidecidual (fragmentos florestais no noroeste paulista - FFNP) foram utilizados para essa abordagem.

Foram utilizados os meios Bold (NICHOLS, 1973) e água-solo (PRINGSHEIM, 1946), nas formas liquida e sólida (2,5g de ágar-ágar em 100ml de meio líquido). Os organismos com talos filamentosos foram colocados tanto em meios líquidos quanto sólidos e aqueles com talos pseudoparenquimatosos, apenas em meios sólidos.

As condições de crescimento foram de 25 ± 1ºC, sob luz branca fluorescente contínua (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003), em estufas incubadoras (A402 Marconi).

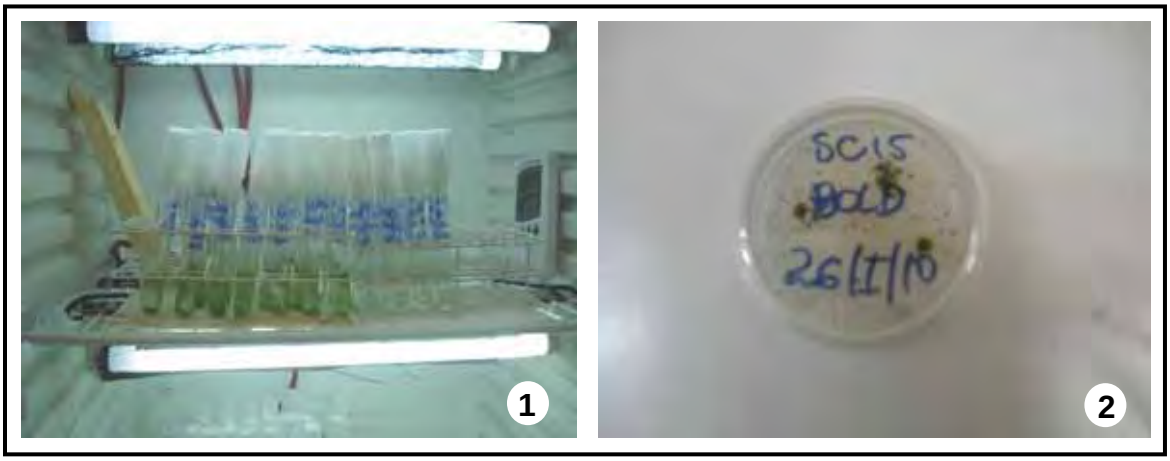
De cada uma das espécies filamentosas, foram separados pequenos grupos de filamentos (cinco a 10), que foram inoculados nos meios líquidos e sólidos estéreis, em tubos de ensaio e placas de Petri, respectivamente (Figuras 1-2). Já para a inoculação dos espécimes pseudoparenquimatosos, foram separados quatro a oito talos, que foram colocados em placas de Petri estéreis contendo meio sólido. Para cada morfotipo, foram realizadas três repetições em cada um dos meios.

Todos os meios utilizados, sólidos ou líquidos, assim como tubos e placas de Petri são previamente autoclavados a 120ºC, sob pressão de 1atm, por 20 minutos, com a finalidade de esterilização dos mesmos.

O processo de inoculação foi realizado em câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com luz UV por 30 minutos e aplicação de álcool 70% sobre a superfície de trabalho, além da utilização do bico de Bunsen para a esterilização de todo o material utilizado no procedimento.

Todas as culturas foram constantemente acompanhadas, analisadas, sendo que as repicagens das mesmas foram realizadas por volta de trinta dias de cultivo.

Durante o estudo dos cultivos, os espécimes foram observados, primeiramente, em microscópio estereoscópico (Olympus SZX7) para visualização e registro das características gerais da massa. Posteriormente, os organismos foram estudados sob microscópio de luz (Olympus BX50), com sistema de captura de imagens acoplado ao conjunto óptico.



Figuras 1-2. 1. Amostras de Trentepohliales em meio de cultura líquido. 2. Amostra de Trentepohliales em meio de cultura sólido.

4. Resultados e discussão

Dos organismos encontrados na região do Parque Estadual da Serra do Mar, nove espéciesforam colocadas em culturas artificiais, com três repetições para cada uma delas, nos quatro diferentes tipos de meios, totalizando 108 inóculos iniciais. Do Parque Nacional de Itatiaia, seis espécies foram colocadas em cultura; da região de Campos do Jordão, quatro espécies foram colocados em meio de cultura; região do Parque Nacional da Serra da Canastra, cinco espécies foram inseridos em cultivo e quatro espécies originárias de fragmentos florestais do noroeste paulista foram inseridos em cultivos artificiais (Tabela 1). Foram inoculados espécimes pertencentes aos gêneros *Trentepohlia*, *Printzina*, *Cephaleuros* e *Phycopeltis* (Tabela 2).

Todos os organismos que tiveram sucesso no crescimento e foram mantidos em cultura são filamentosos, pois nos testes realizados com espécies pseudoparenquimatosos (*Cephaleuros* e *Phycopeltis*), nenhum conseguiu se estabelecer e se desenvolver em meios artificiais, embora várias combinações de fatores ambientais tenham sido testadas. Embora os meios de cultivos utilizados nesse estudo estejam citados na literatura como favoráveis para o crescimento de Trentepohliales, estes podem não ter suprido as necessidades nutricionais exigidas por essas algas, já que os membros de gêneros pseudoparenquimatosos, geralmente,

crescem sobre ou dentro de folhas de plantas superiores, incluindo alguns membros parasitas e, portanto, o requerimento nutricional para esses organismos pode ser distinto. Ainda, o crescimento acelerado de fungos das culturas também pode ter prejudicado o estabelecimento dessas morfoespécies.

Tabela 1. Dados dos inóculos de Trentepohliales em cultivo artificial.

Origem do inóculo	**Data**	**Inóculos iniciais**	**Amostras com sucesso**
PESM	28/VII/2009	108	22
RCJ	24/XII/2009	72	7
PNSC	25/I/2010	126	16
PNI	16/III/2010	63	10
FFNP	10/XII/2010	12	4

Todos os inóculos de Trentepohliales colocados em meio agarizado, tanto no meio Bold, quanto no água-solo foram altamente contaminados, principalmente por fungos filamentosos e algas verdes cocóides, mesmo após todo o procedimento de esterilização (Figuras 3-4), sendo provável que os contaminantes estivessem presentes nas amostras coletadas em campo. De todos os inóculos em meio agarizado, apenas uma população de *T. arborum*, proveniente do Parque Nacional da Serra da Canastra, ainda está sendo mantida (Bold agarizado) na coleção; apesar da presença de contaminantes, principalmente fungos filamentosos, esse meio apresentou-se favorável ao desenvolvimento dessa população.

Os organismos mantidos em meio líquido têm apresentado crescimento lento nas condições estabelecidas (25 ± 1ºC, luz fluorescente branca, irradiância média 50 µmol fótons.m^{-2}.s^{-1}). Rindi & Guiry (2002) observaram que a melhor condição de crescimento e desenvolvimento de *Trentepohlia* e *Printzina* provenientes de ambientes

urbanos da Irlanda Ocidental encontrava-se em temperaturas entre 10 e 20ºC, que é faixa próxima daquela encontrada no habitat de ocorrência de tais organismos (entre 0 e 20ºC). Rindi et al. (2005) cultivaram organismos originários de habitats tropicais (Ilhas Havaianas) à temperatura de 25ºC.

Neste estudo, as condições de crescimento utilizadas tentaram refletir as condições ambientais dos microhabitats dos organismos encontrados no Brasil.

Tabela 2. Espécies de Trentepohliales em cultivo artificial.

PESM	RCJ	PNSC	PNI	FFNP
Cephaleuros sp.1	*T. abietina**	*C.*cf. *parasiticus*	*Printzina* sp.2	*C. kartenii*
Phycopeltis epiphyton	*T. abietina* var. *tenue**	*T. abietina* var. *tenue*	*T abietina*	*Printzina* sp.3
Printzina sp.3*	*T. aurea**	*T. arborum**	*T. arborum*	*T.abietina*
Trentepohlia abietina	*T.* cf. *iolithus*	*T. aurea**	*T. aurea**	*T. monile*
T. arborum		*T. umbrina*	*T odorata*	
*T. cf. chapmanii**			*Trentepohlia* sp.1*	
T. diffracta				
T. monile				
Trentepohlia sp.1				

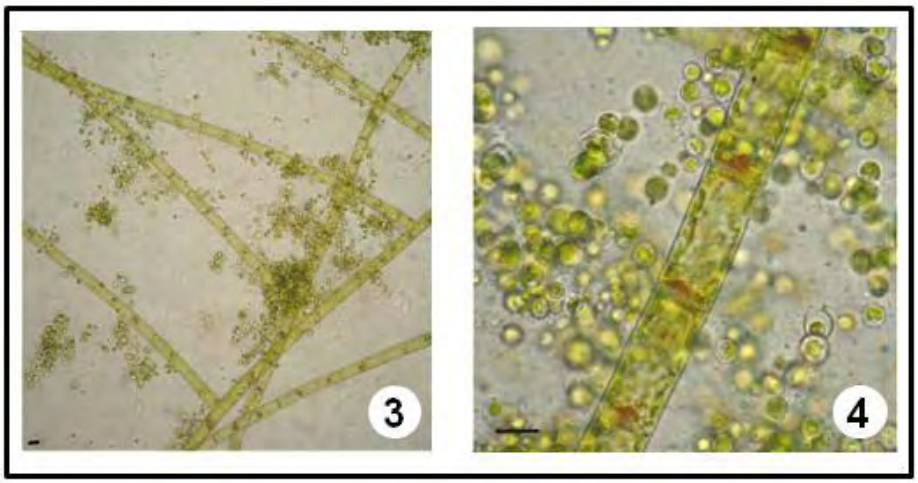
* Espécies ainda mantidas em meio de cultura.

Não foram observadas variações no crescimento das espécies nos dois tipos de meio utilizados, Bold e água-solo, no entanto, apesar de serem organismos terrestres, os morfotipos de Trentepohliales estabeleceram-se melhor nos meios líquidos, já que apenas uma população desenvolveu-se em meio agarizado. O crescimento de espécies em meios artificiais líquidos tem sido relatado na literatura (RINDI & GUIRY, 2002; RINDI et al., 2005) e, segundo Rindi & Guiry (2002), espécimes crescendo nessas condições possuem um padrão de ramificação mais aberto, permitindo que características dessas algas, como por exemplo estruturas reprodutivas, sejam observadas mais facilmente.

Trentepohliales são caracteristicamente observadas em ambiente natural com intensa coloração alaranjada, que é devida ao acúmulo de β-caroteno e outros pigmentos carotenóides (JEREMIAS, 1963). Os carotenóides agem como pigmentos

acessórios envolvidos principalmente na proteção contra fotoxidação de clorofilas (LEVAVASSEUR, 1989). Os organismos que cresceram em meio de cultivo artificial apresentaram coloração verde e grande parte dos espécimes estudados possuia pouco conteúdo de carotenóides. Esse fato pode estar relacionado à intensidade luminosa (40 a 70 µmol fótons.m^{-2}.s^{-1}) a que esses organismos foram expostos, que possivelmente não foi suficiente para o estímulo de produção de carotenóides.

Conseguiram se estabelecer em meio líquido espécimes de *Printzina* sp.3*, Trentepohlia abietina, T. arborum*, *T. aurea, T.* cf. *chapmanii* e *Trentepohlia* sp.1*.* Apesar de haver contaminação, principalmente por algas verdes cocóides, foi possível o crescimento desses organismos e assim a realização de estudos morfológicos e posterior comparação com os espécimes de campo.



Figuras 3-4. Filamentos de *Trentepohlia arborum* e contaminantes (clorófitas unicelulares) crescendo em meio de cultura água-solo líquido. (Escala = 10µm).

Estudo morfológico – espécies em meio artificial

Printzina sp.3

(Fig. 5)

Massas amarelas, formadas por filamentos emaranhados. Filamentos longos, não afilados em direção ao ápice; células longas, cilíndricas, algumas vezes sem forma definida, (4,0-)5,6-7,2(-8,0)µm diam., (24,0-)55,0(-80,0)µm compr., RC/L (4,3-)7,0-9,0(-14,3); cloroplastos indistintos; conteúdo celular com poucas gotas de carotenóides.

População: PESM.

Comentários: Em comparação com os espécimes de campo estudados, os organismos que cresceram em meio de cultura líquido apresentaram células mais longas e, assim, relação comprimento/largura também maior. Além da diferença mencionada, os organismos em cultura mostraram filamentos longos e células cilíndricas a irregulares, enquanto os organismos de campo caracterizaram-se por possuir filamentos curtos e células moniliformes a quase cilíndricas.

Trentepohlia abietina (Flotow) Hansgirg var. *tenue* (Zeller) Cribb

(Fig. 6)

Massas verdes, formadas por filamentos emaranhados. Filamentos longos, não afilados em direção ao ápice, muito ramificados; células cilíndricas, 4,0-5,6µm diam., 32,0-46,0µm compr., RC/L 5,7-8,3; cloroplastos discóides; conteúdo celular com poucas gotas de carotenóides.

População: RCJ.

Comentários: Os organismos que cresceram em meio artificial líquido apresentaram células um pouco mais longas que as dos organismos de campo e com diâmetro menor (18,4-26,0µm compr., 8,8-11,0µm diam.). As outras características morfológicas foram semelhantes às dos organismos de campo.

Trentepohlia arborum (Agardh) Hariot

(Figs. 7-8)

Massas verdes, formadas por filamentos emaranhados; talos diferenciados em sistema prostrados e eretos. Sistema prostrado cresceu no interior do meio agarizado, células cilíndricas ou sem forma definida. Sistema prostrado com filamentos longos, não afilados em direção ao ápice, muito ramificados; células longas, cilíndricas, algumas vezes sem forma definida, (3,2-)4,8-8,0(-9,6)µm diam., 24,0-88,0µm compr., RC/L 3,0-20,0; cloroplastos parietais; conteúdo celular das células dos feixes eretos rico em carotenóides.

População: PNSC.

Comentários: Os espécimes de *T. arborum* que se desenvolveram em meio artificial agarizado apresentaram diferenciação entre sistemas prostrado e ereto. Os organismos também apresentaram células mais longas que as encontradas nos exemplares de campo ((32,0-)40,0-46,0(-67,2)µm compr.). Esses organismos exibiram maior quantidade de carotenóides que as outras morfoespécies que se desenvolveram em meio líquido.

Trentepohlia aurea (Linnaeus) Martius

(Fig. 9)

Massas verdes, formadas por filamentos emaranhados. Filamentos longos, não afilados em direção ao ápice, pouco ramificados; células longas, cilíndricas a elípticas, (4,0-)5,6-7,2(-8,0)µm diam., (24,0-)55,0(-80,0)µm compr., RC/L (4,3-)7,0-9,0(-14,3); células apicais cônico-arredondada; cloroplastos discóides; conteúdo celular com poucas gotas de carotenóides.

Populações: PNI, RCJ e PNSC.

Comentários: Espécimes de *T. aurea* provenientes das três regiões desenvolveram-se em meio líquido, com pouca quantidade de carotenóides. Os organismos que cresceram em meio artificial apresentaram morfologia semelhante aos organismos

encontrados na natureza, porém com células mais longas ((28,0-)31,2-40,8(-52,0)µm) que os espécimes encontrados em campo.

Trentepohlia cf. *chapmanii* Rindi & López-Bautista

(Fig. 10)

Massas amarelas, formadas por filamentos emaranhados. Filamentos longos, não afilados em direção ao ápice, muito ramificados; células irregulares, cilíndricas (2,4-) 3,2-4,0µm diam., (10,0-)12,0-20,0(-27,2)µm compr., RC/L 2,7-5,0(-5,4); cloroplastos indistintos; conteúdo celular com poucas gotas de carotenóides.

Populações: PESM.

Comentários: Em meio de cultivo artificial, os organismos não apresentaram variação morfologia em relação aos organismos de campo analisados. Apenas a quantidade de carotenóide foi reduzida em relação aos espécimes encontrados na natureza.

Trentepohlia sp.1

(Fig. 11)

Massas verdes, formadas por filamentos emaranhados. Filamentos longos, não afilados em direção ao ápice; célula apical cônica-arredondada ou algumas vezes elípticas; células cilíndricas, 9,6-10,4(-13,6)µm diam., (30,4-)34,4-38,4(-60,0)µm compr., RC/L (2,6-)2,9-4,0(-6,2); cloroplastos discóides; conteúdo celular com poucas gotas de carotenóides.

Populações: PNI.

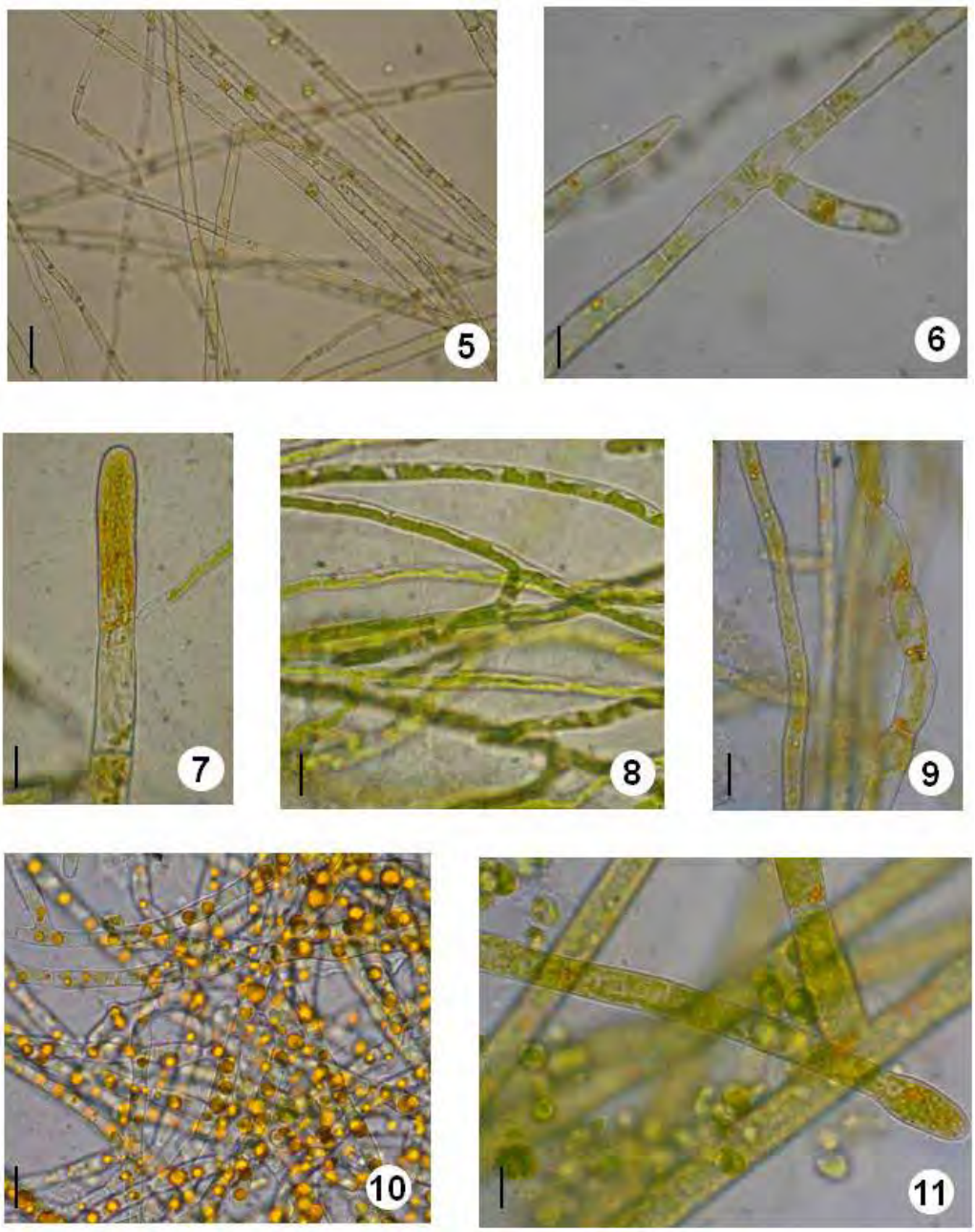
Comentários: *Trentepohlia* sp.1 mostrou ampla variação morfológica em meio de cultura artificial, o que não é comum em ambiente natural. Esses organismos apresentaram células mais longas ((20,0-)24,8-28,0(-31,2)µm) que os espécimes provenientes diretamente da natureza, além de não terem sido observadas paredes celulares espessas e coloridas, como nas populações de campo.

Todos os morfotipos que se desenvolveram em meio artificial, possuíram como características comuns células mais longas e com diâmetros menores que seus correspondentes observados em campo e, na maioria dos casos (Tabela 3), com alteração no formato celular, Além disso, os talos também apresentaram maiores quantidades de ramificações em meio artificial.

Estudos realizados com cultivos artificiais de Trentepohliales relatam a dificuldade de se obter culturas unialgais (JOHNSTONE, 1978; LIM et al., 1992), embora em outros estudos isso tenha sido possível (RINDI & GUIRY, 2002; RINDI et al., 2005). Segundo F. Rindi (comunicação pessoal), cultivos artificiais realizados com organismos de regiões tropicais podem ser mais influenciados por contaminação, devido à quantidade de organismos aos quais as Trentepohliales estão ligadas no habitat natural. Apesar da falta de sucesso em alcançar cultivos unialgais, o registro das características das amostras mantidas em cultura constitui mais um dado importante no estudo das Trentepohliales, sendo esse resultado um dos poucos disponíveis para material de regiões tropicais.

Tabela 3. Comparação das medidas celulares encontradas em populações de campo e populações de cultura.

Espécies	Diâmetro (µm)		Comprimento (µm)		RC/L	
	Campo	Cultura	Campo	Cultura	Campo	Cultura
Printzina sp.3	6,4-8,8	(4,0-)5,6-7,2(-8,0)	8,0-)10,4-16,0	(24,0-)55,0(-80,0)	1,2-2,5	(4,3-)7,0-9,0(-14,3)
T. abietina	(6,8-)8,8-11,0(-12,0)	(4,0-)4,8-6,4(-9,6)	(12,0-)18,4-26,0(-29,6)	(16,0-)32,0(-47,2)	(1,5-)2,0-3,0(-3,2)	(2,3-)4,2(-9,8)
T. abietina var. *tenue*	(4,0-)4,8-6,4(-10,0)	4,0-5,6	(11,2-)15,2-16,0(-26,4)	32,0-46,0	(1,5)2,0-4,3	5,7-8,3
T. arborum	(11,2-)13,6-14,4(-16,8)	(8,8-)12,0(-14,4)	(30,4-)37,6-40,0(-44,8)	(21,6-)28,0-36,0(-43,2)	(2,2-)2,9(-3,7)	2,05-3,4
T. aurea	(14,4-)16,0-19,2(-27,2)	(4,0-)5,6-7,2(-8,0)	(28,0-)31,2-40,8(-52,0)	(24,0-)55,0(-80,0)	(1,7-)1,9-2,5(-2,8)	(4,3-)7,0-9,0(-14,3)
T. cf. *chapmanii*	4,0-6,4(-7,2)	(2,4-)3,2-4,0	(8,8-)10,4-12,8(-15,2)	(10,0-)12,0-20,0(-27,2)	1,8-2,5(-3,0)	2,7-5,0(-5,4)
Trentepohlia sp.1	(12,8-)13,6-15,2	9,6-10,4(-13,6)	(20,8-)24,8-28,0(-31,2)	(30,4-)34,4-38,4(-60,0)	1,7-2,0	(2,6-)2,9-4,0(-6,2)



Figuras 5-11. 5. *Printzina* sp.3. 6. *Trentepohlia abietina*. 7-8. *T. arborum*. 9. *T. aurea*. 10. *T. chapmanii*. 11. *Trentepohlia* sp.1 (Escalas = 10µm).

5. Referências bibliográficas

ABE, K.; NISIMURA, N.; HIRANI, M. Simultaneous production of α-carotene, vitamin E and vitamin C by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. **Journal Appl. Phycology**, v. 11, p. 331-336, 1999.

CHAPMAN, R. L. An assessment of the current state of our knowledge of the Trentepohliaceae. In: IRVINE, D.E.G.; JOHN, D.M. **Systematics of the Green Algae**. London: Academic Press, v. 27, p. 233-250, 1984.

CHAPMAN, R.L.; GOOD, B.H. Ultrastructure of plasmodesmata and cross walls in *Cephaleuros*, *Phycopeltis* and *Trentepohlia* (Chroolepidaceae, Chlorophyta). **European Journal of Phycology**, v. 13, p. 241-246, 1978.

FRITSCH, F.E. The moisture relations of terrestrial algae. I. Some general observations and experiments. **Annales di Botanica**, v. 36, p. 1-20, 1922.

HO, K.K.; TAN, K.H.; WEE, Y.C. Growth conditions of *Trentepohlia odorata* (Chlorophyta, Ulotrichales). **Phycologia**, v. 22, p. 303-308, 1983.

HOWLAND, J.L. The Moisture relations of terrestrial algae. IV. Periodic of observation of *Trentepohlia aurea* Martius. **Annales di Botanica**, v. 43, p. 173-202, 1929.

JEREMIAS, K. Über die xanthophylle der *Trentepohlia aurea*. **Naturwissenschaften**, v.50, p.303-304, 1963.

JOHNSTONE, I.M. *Draparnaldiopsis*: a filamentous green alga (Chlorophyta, Chaetophorales) requiring vitamin B_{12}. **Phycologia**, v. 16, p. 183-187, 1978.

LEVAVASSEUR, G. Analyse comparée dês complexes pigment-protéines de chlorophycophytes marines benthiques. Phycologia, v. 28, p.1-219, 1989.

LIM, M.; ONG., B-L.; WEE, Y-C. A method of obtaining axenic cultures of *Trentepohlia* spp. (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 28, p. 567-569, 1992.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; CHAPMAN, R.L. Phylogenetic affinities of the Trentepohliales inferred from small-subunit rDNA. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 2099–2106, 2003.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; WATERS, D.A.; CHAPMAN, R.L. The Trentepohliales revisited. **Constancea** 83 http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez_etal/trentepohliales.html. 2002. Acessado em 27/05/2010.

NICHOLS, H.W. Growth media – freshwater. In: STEIN J.R. **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements.** Cambridge: Cambridge University Press, p. 7–24, 1973.

ONG, B.L.; LIM, M.; WEE, Y.C. Effects of desiccation and illumination on photosynthesis and pigmentation of an edaphic population of Trentepohlia odorata (Chlorophyta). Journal of Phycology, v. 28, p. 768-772, 1992.

PONMURUGAN, P.; SARAVANAN, D.; RAMYA, M. Culture and biochemical analysis of a tea algal pathogen, *Cephaleuros parasiticus.* **Journal of Phycology**, v. 46, p. 1017-1023, 2010.

PRINGSHEIM, E.G. The biphasic or soil water culture method of growing algae or flagellate. **Journal of ecology**, v. 33, p. 193-204, 1946.

PRINTZ, H. Vorarbeiten zu einer Monographie der Trentepohliaceen. **Nytt Magasin for Naturvidenskapene**, v. 80, p. 137–210, 1939.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. Diversity, life history and Ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban *habitat*s in Western Ireland. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 39-54, 2002.

RINDI, F.; SHERWOOD, A.R.; GUIRY, M.D. Taxonomy and distribution of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in the Hawaiian Islands. **Phycologia**, v. 44, p. 270-284, 2005.

TAN, C.K.; LEE, Y.K.; HO, K.K. Effect of light intensity and ammonium-N on carotenogenesis of *Trentepohlia odorata* and *Dunaliella bardawil*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, p. 547-549, 1993.

Capítulo VI

Estudos moleculares e filogenia de Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) de biomas brasileiros

1. Resumo

Embora as algas pertencentes à ordem Trentepohliales estejam entre os grupos mais ricos e abundantes da flora aerofítica de regiões tropicais e subtropicais, alguns aspectos de sua biologia e sua história filogenética ainda permanecem pobremente caracterizados. O presente estudo tem como objetivo avaliar características moleculares de populações encontradas, visando contribuir com o estudo das relações filogenéticas entre representantes da ordem. Foram realizadas técnicas de extração convencionais de DNA e técnica de isolamento de células, com amostras provenientes, principalmente, de campo, seguidas de amplificação do gene *rbc*L, comparação com as sequências existentes no GenBank e análises filogenéticas. Foram amplificados e sequenciados os genes de 11 espécies de *Trentepohlia* originárias de diferentes regiões do Brasil e os resultados obtidos revelam incongruências entre as características morfológicas e genéticas, ressaltando a falta de conhecimento taxonômico e das relações evolutivas do grupo.

2. Introdução

As algas verdes aerofíticas pertencem a várias linhagens distintas e suas origens independentes são resultado de vários eventos de colonização do ambiente terrestre, realizados por diferentes grupos de algas aquáticas (LEWIS & McCOURT, 2004; LEWIS, 2007; CARDON et al., 2008). Entre as principais classes de algas que possuem membros ocupando o ambiente terrestre estão as Ulvophyceae (LEWIS & McCOURT, 2004).

A classe Ulvophyceae compreende um conjunto de organismos morfo e ecologicamente diversificado e, embora grande parte dos seus membros habite o ambiente marinho, essa classe também possui representes no ambiente terrestre, constituindo a ordem Trentepohliales (LEWIS & McCOURT, 2004). O posicionamento de Trentepohliales dentro de Ulvophyceae é suportado por estudos moleculares realizados com 18S rRNA (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003) e sugere que organismos dessa ordem realizaram a transição do ambiente aquático para o terrestre (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2002; LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003).

As algas pertencentes à Trentepohliales constituem um dos grupos de Chlorophyta mais comuns da ficoflora aerofítica de regiões tropicais (RINDI et al., 2009). Esses organismos são caracterizados por um conjunto de adaptações que permite o crescimento e desenvolvimento no ambiente terrestre e, apesar disso, apresentam morfologia relativamente simples. Outra característica dos membros dessa ordem é a grande plasticidade morfológica relacionada com respostas a fatores ambientais. Tais variações, aliadas à pouca quantidade de caracteres morfológicos diacríticos, tornam esse grupo taxonomicamente complexo (HARIOT, 1889; RINDI & GUIRY, 2002; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

A história filogenética do grupo ainda permanece pobremente caracterizada. Alguns gêneros são filogeneticamente resolvidos, como é o caso de *Cephaleuros*, que forma um clado monofilético bem suportado, porém outros gêneros ainda possuem

circunscrição confusa, como são os casos de *Trentepohlia*, *Phycopeltis* e *Printzina* (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006).

Estudos moleculares indicam que muitos critérios morfológicos tradicionalmente utilizados para separar gêneros e espécies não estão corretamente relacionados com os padrões filogenéticos (LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006). A atual classificação do grupo é inteiramente baseada em caracteres morfológicos e a classificação dos gêneros e espécies é fundamentada nas primeiras monografias feitas para o grupo, principalmente as de Printz (1921, 1939). Entretanto, segundo RINDI et al. (2009), as características morfológicas e ecológicas empregadas na taxonomia do grupo precisam ser revistas.

Além de ajudar a resolver incompatibilidades na circunscrição de gêneros e espécies, estudos moleculares podem revelar a diversidade genética dessa ordem, ao passo que novas espécies, não diferenciáveis morfologicamente (crípticas), podem ser descobertas, como é relatado para outros grupos de algas verdes terrestres (NELSEN et al., 2011).

Até o momento, a grande maioria dos dados disponíveis provém de sequências do gene 18S rRNA (LÓPEZ-BAUTISTA & CHAPMAN, 2003; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2006). Segundo RINDI et al. (2009), o grande emprego do marcador 18S rRNA deve-se à sua utilidade para inferências no nível de classes ou ordens, entretanto, a taxa de substituição desses genes é, geralmente, inadequada para esclarecer relações nos níveis genérico e específico (RINDI et al., 2009). Mais recentemente, estudos com o gene *rbc*L vêm sendo desenvolvidos para o entendimento e circunscrição de gêneros e espécies (RINDI et al., 2009; NELSEN et al., 2011), porém a quantidade de táxons utilizados e o número de sequências disponíveis para esse marcador são ainda muito limitados.

Considerando a falta de estudos moleculares abordando Trentepohliales e a limitada resolução filogenética de membros da ordem, o presente estudo tem como

objetivo avaliar características moleculares de populações selecionadas, visando contribuir com o estudo das relações filogenéticas entre representantes da ordem.

3. Material e métodos

3.1. Extração, amplificação e sequenciamento

Os estudos moleculares feitos nesse trabalho envolveram técnicas tradicionais de extração de DNA total realizadas a partir de organismos provenientes diretamente de campo, segundo o protocolo descrito por López-Bautista & Chapman (2003), e uma amostra de cultivo, cujo DNA foi extraído a partir de poucas células.

As massas de Trentepohliales provenientes do campo foram mantidas em sílica gel e, antes dos procedimentos para o estudo molecular, foram observadas sob microscópio estereoscópico para isolamento dos filamentos de interesse. Após selecionada, as massas foram trituradas em almofariz com auxílio de pistilo, previamente autoclavados e mantidos a -20°C, utilizando-se nitrogênio líquido para melhorar a ruptura das células e preservar as moléculas de DNA. Logo após, o material foi processado utilizando-se *Nucleo Spin plant II mini kit* (Macherey-Nagel) ou *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen) para a extração do DNA e o material foi mantido em *freezer* -20°C.

A partir do material genético extraído, foram feitas tentativas de amplificações dos genes 18S rDNA e *rbc*L. Diferentes oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) encontrados na literatura foram testados (Tabelas 1 e 2), grande parte deles foi retirada do estudo de Rindi et al. (2009), e a reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi realizada usando os *kits* de PCR *TopTaq Master Mix* (Qiagen) *e Platinum Taq DNA Polimerase* (Life Technologies) resultando em produtos com volume final de 25µl.

Alternativamente, foi utilizada a técnica de extração de DNA a partir de poucas células ou filamentos, ao invés de uma massa com grande quantidade de filamentos. A técnica foi empregada para garantir especificamente a amplificação dos genes dos organismos de interesse com a diminuição de células contaminantes (fungos, briófitas e outras algas verdes) e produção de sequências confiáveis (FROHLICH & KONIG, 2000). Nesse procedimento, poucos filamentos algais foram isolados sob microscópio estereoscópico (conhecida como técnica de pescaria) e colocados em lâminas de vidro estéreis, juntamente com uma gota de solução-tampão, também previamente esterilizada. Esse material foi levemente macerado para obtenção de filamentos menores ou células isoladas e levado ao microscópio invertido (Leica DMIL LED) para coleta/lavagem das células isoladas ou filamentos. Para separação do material de interesse, foram utilizados capilares estéreis, pela manipulação de pipetas *Pasteur* sobre bico de *Bunsen* e com auxílio de pinça. O capilar foi posicionado na direção da célula ou do filamento de interesse, de forma que o material fosse transferido para o capilar (Figura 1). O material coletado foi transferido para outra gota de solução-tampão esterilizada para lavagem e, após três a cinco repetições do procedimento, a célula ou filamento foi armazenado em microtubo de 2ml (tipo *Eppendorf)*. Após isso, o material coletado pela técnica de isolamento foi submetido ao tratamento *freeze-thaw*, que consistiu de cinco ciclos de congelamento (com nitrogênio líquido) e aquecimento a temperatura de 65°C (SUNNOTEL et al., 2006), em banho-maria. Esse processo tem a finalidade de romper ou desestabilizar a parede celular e, assim, facilitar a exposição do material genético para as reações de PCR.

Se, ao final da reação de PCR, não foi gerada uma quantidade adequada de produto (consequência da utilização de poucas células para a extração), realizou-se uma uma nova reação de PCR utilizando o produto da primeira reação como DNA molde.

As reações foram feitas em termocicladores *Techgene* TC-312 e TC-512 (Techne, Burlington, Reino Unido) e foram utilizados os seguintes programas de temperatura para os ciclos da reação de PCR:

- 18S rDNA: 94°C por 4 min (desnaturação inicial); 35 ciclos: 94°C por 30 seg (desnaturação); 55°C por 30 seg (anelamento); 72°C por 2 min (extensão); 72°C por 6 min (extensão final); 4°C (armazenamento).

- *rbc*L: 95°C por 5 min (desnaturação inicial); 40 ciclos: 95°C por 1 min (desnaturação); 50°C por 1 min (anelamento); 72°C por 1 min (extensão); 72°C por 7 min (extensão final); 4°C (armazenamento).

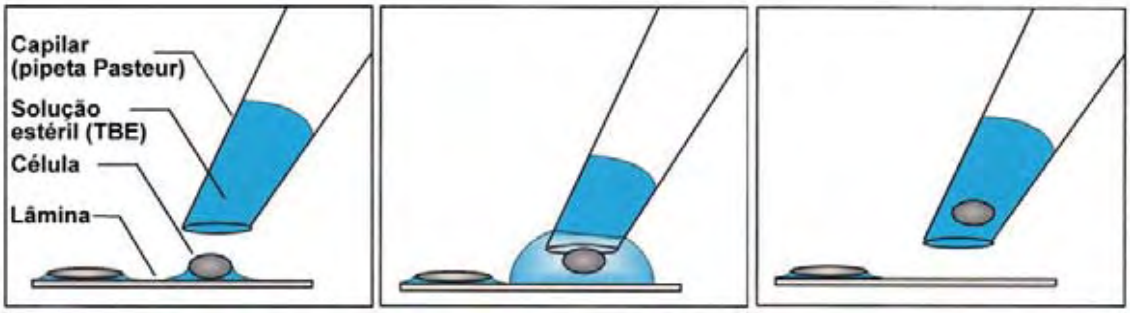


Figura 1. Desenho esquemático do isolamento de células ou filamentos (FROHLICH & KONIG, 2000, adaptado).

Os produtos de PCR foram analisados em gel de agarose 0,7% (70mg de agarose em 100 ml da solução-tampão TBE - tris-borato-EDTA) e as bandas geradas foram comparadas com marcador de tamanho "1 Kb DNA *ladder*" (Gibco, Gaithersburg, E.U.A.), pela visualização sob luz UV em transiluminador.

Após a confirmação da presença das bandas, todo o volume do produto da reação de PCR foi aplicado em gel de agarose 1,2%, sendo que as bandas foram recortadas com auxílio de bisturi e este material foi posteriormente purificado, utilizando *QIAquick Gel Extraction kit* (Qiagen). Logo após, essas amostras foram quantificadas no fluorômetro Qubit® com o uso do *kit* Quant-it® ds DNA BR (Invitrogen, Carlsbad, E.U.A.).

Os produtos de PCR, com concentração de 40ng/µl, foram submetidos a reação de sequenciamento usando *Big Dye Terminator* versão 3.0 (Applied Biosystems) utilizando-se os *primers* a-chrbcL-203-5-MPN e a-ch-rbcL-706-3-MPN (NELSEN et al., 2011)e as sequências foram obtidas no sequenciador ABI3100 *Automated Sequencer* (Applied Biosystems). A qualidade das sequências foi verificada usando o pacote de programas *Phred, Phrap, Consed* (EWING & GREEN, 1998; EWING et al., 1998; GORDON et al., 1998), garantindo qualidade de leitura de nucleotídeos superior a 20. As sequências foram alinhadas individualmente no programa computacional BioEdit (HALL, 1999, www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/ BioEdit.html), a fim de se obter as sequências consenso, as quais foram comparadas com aquelas disponíveis no "GenBank" (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), por meio do programa BLAST (ALTSCHUL et al., 1990).

3.2. Análises filogenéticas

As análises filogenéticas foram realizadas baseando-se em métodos de distância (*Neighbor-Joining* – NJ) e em análises de estado de caráter (máxima verossimilhança, *Maximum Likelihood* – MV, e inferência Bayesiana, – IB). O modelo evolutivo que melhor representou os dados foi inferido utilizando-se o programa *Modeltest* (POSADA & CRANDALL, 1998) com o critério de informação Akaike (AKAIKE, 1974). As topologias das árvores NJ e MV foram estimadas usando o programa MEGA 5.0 (TAMURA et al., 2011), com pseudorréplicas de 1000 amostragens para acessar a confiabilidade dos nós. A inferência Bayesiana foi realizada pelo programa *MrBayes* 3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001), com os parâmetros fixados em duas corridas com 5.000.000 de gerações, quatro cadeias a uma temperatura de 0,2 e a amostragem foi realizada a cada 1000 árvores, sendo as 500 primeiras árvores descartadas como *burn-in*.

Tabela 1. *Primers* do gene 18S rDNA utilizados nesse estudo.

Primer	Sequência	Orientação	Posição de anelamento	Referência
18S5'	CAACCTGGTTGATCCTGCCAGT	*Forward*	Extremidade 5'	Sogin, 1990
PCRA	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT	*Forward*	Extremidade 5'	Medlin et al., 1988
18B	TGCATGGCTTAATCTTTGAGACAAGCATATG	*Forward*	25-55	Hamby et al., 1988
HRC	GCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGC	*Forward*	1131-1160	Hamby et al., 1988
GRC	AGGGCAAGTCTGGTGCCA	*Forward*	554-571	Hamby et al., 1988
PRC	CGAAAGCATTTGCCAAGG	*Forward*	941-958	Hamby et al., 1988
18G	TGGCACCAGACTTGCCCT	*Reverse*	554-571	Hamby et al., 1988
18H	GCCCTTCCGTCAATTCCTTTAAGTTTCAGC	*Reverse*	1131-1160	Hamby et al., 1988
18J	TCTAAGGGCATCACAGACCTGTTATTG	*Reverse*	1424-1450	Hamby et al., 1988
PCRB	TGATCCTTCTGCAGGTTCACCTAC	*Reverse*	Extremidade 3'	Medlin et al., 1988
18S3'	GATCCTTCTGCAGGTTCACCTACG	*Reverse*	Extremidade 3'	Sogin, 1990

Tabela 2. *Primers* do gene *rbc*L utilizados nesse estudo.

Primer	Sequência	Orientação	Posição de anelamento	Referência
RH1	ATGTCACCACAAACAGAAACTAAAGC	*Forward*	1-26	Zurawski & Clegg, 1987
FT122	CAGAAGAAGCAGGAGCAGCA	*Forward*	122-141	Rindi et al., 2009
*rbc*L 320	TATTCGAAGAAGGTTCAGTAAC	*Forward*	320-341	Nozaki et al., 1995
*rbc*L650	GTTTCCTTTTCGTAGCTGAAGC	*Forward*	650-671	Nozaki et al., 1995
RT994	TCTATCTCCTTCTAATTTTCCTAC	*Reverse*	971-994	Rindi et al., 2009
RT1134	CATGTGCCAAATGTGAATACC	*Reverse*	1113-1134	Rindi et al., 2009
R1220	GGTGCATTACCCCATGGGTGTCCTA	*Reverse*	1195-1220	Rindi et al., 2009
rbcL Q	GATCTCCTTCCATACTTCACAAGC	*Reverse*	1371-1394	Zechman, 2003

4. Resultados

A maioria das populações de Trentepohliales submetidas às etapas de extração, amplificação e sequenciamento foi proveniente diretamente do campo. Os cultivos de organismos obtidos artificialmente apresentaram contaminação por outros eucariotos, o que impossibilitou que grande parte fosse empregada nos estudos moleculares.

As amplificações dos genes 18S rDNA e *rbc*L utilizando os *primers* descritos nos trabalhos de López-Bautista & Chapman, (2003) Rindi et al. (2009), no entanto, não foram eficientes para individualizar as Trentepohliales devido à falta de especificidade e o produto gerado não demonstrava a qualidade necessária. Posteriormente, para o gene *rbc*L, *primers* mais específicos para o grupo (NELSEN et al., 2011) passaram a ser utilizados e os resultados foram mais consistentes.Desse modo, foram geradas 11 sequências parciais do marcador *rcb*L, com aproximadamente 798 pares de bases para 11 populações de seis diferentes morfoespécies/variedade (Anexo 1).

A comparação dessas sequências com aquelas disponíveis no *GenBank* mostrou que as amostras identificadas com *T. arborum* obtiveram os maiores níveis de identidade (99%) com sequências do banco. As demais sequências, entretanto, tiveram nível de identidade igual ou inferior a 95% (Tabela 3) com os organismos mais próximos.

Considerando as 11 sequências do gene *rbc*L obtidas nesse estudo para populações de *Trentepohlia*, observou-se uma variação de 24 a 240 nucleotídeos (4 a 30%; Tabela 4) entre si. As comparação das sequências de *T. arborum* geradas com aquelas mais próximas presentes no banco apresentaram variação de 23 a 236 nucleotídeos (3 a 30%; Tabela 5), enquanto as populações de *T. abietina* e *T. abietina* var. *tenue* mostraram variação de 29 a 210 nucleotídeos (4 a 26%; Tabela 6) com aquelas mais relacionadas.

O modelo evolutivo mais adequado para o conjunto de dados foi o de nucleotídica GTR+I+G (GTR = General Time Reversible, I = sítios invariáveis e G = distribuição gama), com as seguintes frequências de bases: adenina (A) = 0.3045, citosina (C) = 0.1559, guanina (G) = 0.1735, timina (T) = 0.3662; e matriz de substituição A-C = 1,2921, A-G = 3,5816, A-T = 2,3937, C-G = 1,7577, C-T = 5,6718 e G-T = 1,0000. A proporção de sítios invariáveis e o valor do *gama shape* (α) foram 0,2651 e 0,6377, respectivamente.

As análises filogenéticas com base nos três métodos escolhidos (NJ, MV e IB) resultaram em árvores com topologias semelhantes. Em função da melhor estabilidade dos ramos e dos clados, a topologia MV foi escolhida para apresentação dos valores das análises, porém o valor de bootstrap e probabilidade posterior quando significativo foi representado nos nós dos ramos (Figura 2).

Na filogenia gerada, foi possível identificar a presença de três grandes clados, um deles formado por uma variedade de espécies de *Trentepohlia* e *Printzina* de diferentes regiões geográficas (Figura 2; clado A). O segundo inclui espécies de *Cephaleuros* e *T. dialepta* (clado B) e o último é também composto por espécies de *Trentepohlia* e *Printzina* de diferentes locais (clado C). As populações desse estudo foram distribuídas nos clados A e C.

Grande parte dos agrupamentos internos desses clados não foi bem suportada e não houve clara separação dos gêneros definidos com base na morfologia. Espécies de *Trentepohlia* e *Printzina* foram distribuídas ao longo de toda a árvorefilogenética, enquanto as de *Cephaleuros* revelaram maior similaridade e constituíram um clado mais homogêneo (clado B). Além da indistinção dos gêneros segundo as características moleculares, a filogenia também evidencia que algumas espécies não estão claramente definidas, uma vez que apareceram distribuídas em mais de um clado, como são os casos de *C. virescens*, *P. lagenifera T. abietina* e *T. arborum*.

Com relação ao posicionamento das populações avaliadas neste estudo, pode-se observar que as pertencentes à *T. arborum* foram distribuídas em um clado (A1)

com populações dessa mesma espécie, com altos valores de suporte. Entre essas, destaca-se o posicionamento da população proveniente do Parque Nacional de Itatiaia, sendo a mais discrepante em relação às demais, demonstrado pelo longo ramo a qual se insere. *T. aurea* agrupou-se com uma população de *T. monilia* ambas da mesma localidade, enquanto que sequencias do banco de dados de *T. aurea* de outras localidades formaram um clado separado. Esta é o primeiro relato de sequencia de *rbc*L para *T. monile*, o que dificulta a comparação.

Tabela 3. Identidade das sequências de *rbc*L das amostras estudadas comparadas com outras sequências de Trentepohliales do GenBank (NCBI). I = porcentagem de identidade; C = porcentagem de cobertura.

Organismo	**Origem Brasil**	**Organismo mais próximo no GenBank (nº de acesso)**	**I(%)**	**C(%)**	**Origem**
T. arborum	RCJ	*T. arborum (*FJ534606)	99	93	Guiana Francesa
T. arborum	PNI	*T. arborum* (FJ534605)	99	95	EUA
T. arborum	PSNC	*T. arborum* (FJ534605)	99	79	EUA
T. arborum	PESM	*T. arborum* (FJ534605)	99	94	EUA
T. abietina var*. tenue*	RCJ	*T. flava* (FJ534616)	93	95	Chile
T. abietina	RCJ	*Printzina* sp. (FJ534634)	92	96	Guiana Francesa
T. abietina	PNI	*Printzina* sp. (FJ534634)	92	96	Guiana Francesa
T. aurea	RCJ	*T. arborum* (FJ534605)	99	95	EUA
T. cf. *chapmanii*	PESM	*P. lagenifera* (FJ534632)	93	93	Panamá
T. monilia	RCJ	*Printzina* sp. (FJ534630)	94	97	Itália
Trentepohlia sp.	PESM	*T*. cf. *annulata* (FJ534610)	95	94	Guiana Francesa

As populações de *T. abietina* (Parque Nacional de Itatiaia e região de Campos de Jordão) foram agrupadas em um clado bem suportado (A2), porém separado e distante de uma população originária da Espanha e referida pelos autores como *T*. cf. *abietina*. Além disso, as populações brasileiras da espécie posicionaram-se separadamente da população de *T. abietina* var. *tenue* (região de Campos do Jordão), que foi inserida no clado C.

As populações brasileiras de *T.* cf. *chapmanii* e *Trentepohlia* sp. tiveram posicionamento isolado em relação as demais populações estudadas. A primeira ficou localizada no clado A, possuindo como grupo-irmão *P. lagenifera*, porém com baixo valor de suporte. A segunda foi disposta no clado C e tem *T*. cf. *annulata* como grupo-irmão, mas também com baixo valor de suporte.

Tabela 4. Número de nucleotídeos divergentes (porção superior) e porcentagem de divergência (porção inferior) entre as sequências de *rbc*L de espécies de *Trentepohlia* geradas nesse trabalho.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
1. *T. abietina* RCJ	-	29	200	192	147	198	251	130	195	139	235
2. *T. abietina* PNI	4	-	210	184	152	186	240	132	186	132	232
3. *T. abietina* var *tenue* RCJ	25	26	-	192	149	228	271	194	226	205	138
4. *T. arborum* PESM	24	23	24	-	55	84	132	143	119	119	144
5. *T. arborum* RCJ	19	19	19	7	-	120	171	119	152	129	183
6. *T. arborum* PNSC	25	24	29	11	15	-	122	154	79	130	176
7. *T. arborum* PNI	32	30	44	17	22	17	-	236	150	212	222
8. *T. aurea* RCJ	17	17	24	18	15	20	30	-	148	24	205
9. *T*. cf. *chapmanii* PESM	25	24	28	16	19	11	21	19	-	124	171
10. *T. monile*	18	17	26	16	16	17	28	4	17	-	181
11. *Trentepohlia* sp. PESM	30	30	17	19	23	23	29	26	23	24	-

Tabela 5. Número de nucleotídeos divergentes (porção superior) e porcentagem de divergência (porção inferior) entre as sequências de *rbc*L de populações de *T. arborum* e geradas nesse trabalho e obtidas no GenBank (identificada pelo código de acesso).

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
1. *T. arborum* FJ534605	-	23	59	28	100	176	68
2. *T. arborum* FJ534606	3	-	69	51	77	196	91
3. *T. arborum* FJ534604	6	9	-	84	139	216	120
4. T. *arborum* RCJ	4	6	11	-	120	171	55
5. *T. arborum* PNSC	13	10	12	15	-	122	84
6. *T. arborum* PNI	22	25	27	22	17	-	132
7. *T. arborum* PESM	9	12	15	7	11	17	-

Tabela 6. Número de nucleotídeos divergentes (porção superior) e porcentagem de divergência (porção inferior) entre as sequências de *rbc*L de populações de *T. abietina* e *T. abietina* var. *tenue* geradas nesse trabalho e obtida no GenBank (identificada pelo código de acesso).

	1	**2**	**3**	**4**
1. *T*. cf. *abietina* FJ534603	-	175	176	176
2. *T*. *abietina* var. *tenue* RCJ	22	-	200	210
3. *T. abietina* RCJ	23	25	-	29
4. *T. abietina* PNI	23	26	4	-

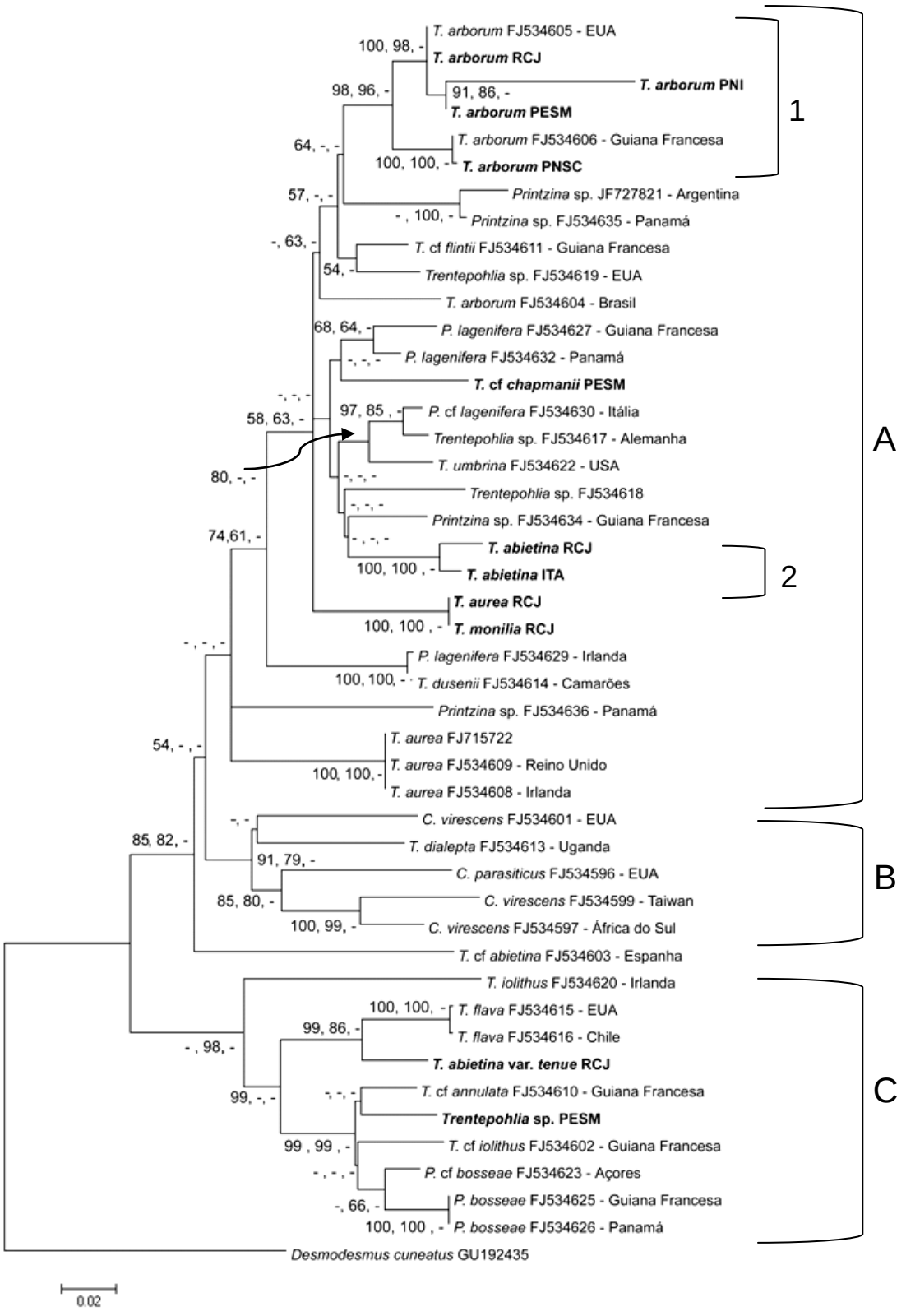


Figura 2. Análise filogenética de sequências parciais do gene *rbc*L.Os valores apresentados nos ramos correspondem aos métodos *Neighbor-Joining* (NJ), máxima verossimilhança (MV) e inferência Bayesiana (IB), respectivamente. são apresentados apenas os valores maiores que 50% para NJ e MV e que 0,50 para IB. Os códigos após os nomes das espécies referem-se ao código do *GenBank*. Barra = substituições/sítios.

5. Discussão

Estudos moleculares de Trentepohliales de regiões tropicais são difíceis de serem executados, principalmente devido ao alto grau de contaminação das amostras, dificultando a obtenção de sequências de boa qualidade a partir de material proveniente diretamente do campo (F. RINDI, comunicação pessoal). Trabalhos que envolvem material de regiões tropicais geralmente utilizam amostras provenientes de bancos de culturas. Os cultivos de Trentepohliales produzidos neste trabalho apresentaram contaminação (como descrito no capítulo V), não sendo totalmente adequados para aplicação nos estudos moleculares. Sendo assim, quase todas (exceto uma) das análises moleculares foram realizadas a partir de amostras provenientes diretamente dos locais de amostragem, embora tenham sido previamente examinadas e selecionadas.

As amplificações dos genes 18S rDNA e *rbc*L mostraram-se muito complexas por diversos problemas, podendo ser destacados dois principais: a contaminação das amostras por DNA de outros organismos nas extrações realizadas a partir de massas de filamentos provenientes da natureza (como já ressaltado acima) e a falta de especificidade dos *primers* para as Trentepohliales. A utilização de material proveniente do campo para análises moleculares com esse grupo é complexa, pois esses organismos crescem aliados a fungos e outras algas verdes. Embora esforços para a limpeza do material tenham sido realizados, algumas vezes, organismos não desejados para estudo foram amplificados, ao invés de Trentepohliales, devido a combinação dos dois fatores citados acima.

Os *primers* utilizados nesse estudo (NELSEN et al., 2011) resultaram na produção de sequências parciais do gene *rbc*L, com aproximadamente 770 pb. Entretanto, a quase totalidade das sequências de *rbc*L de Trentepohliales depositadas no GenBank é de tamanho inferior a 900 pb, o que demonstra a dificuldade de acessar sequências do gene nesses organismos e que, por outro lado, permite análises relativamente equilibradas, por não haver grande disparidade de tamanho.

A topologia da árvore gerada apresenta o mesmo padrão geral que as encontradas em Rindi et al. (2009) e Nelsen et al. (2011). Em parte, isso se deve ao pequeno número de sequências disponíveis no GenBank para esse marcador e, portanto, a maior parte dos elementos também foi utilizada pelos referidos autores. A inclusão do material estudado reforça, entretanto, os questionamentos sobre a fragilidade dos critérios morfológicos utilizados para a definição de espécies.

Embora seja possível reconhecer três clados maiores na filogenia, esses agrupamentos não parecem seguir padrões geográficos ou climáticos, já que populações de regiões distantes geograficamente situam-se próximas na árvore, assim como populações de climas tropicais e temperados. Além disso, também não foram encontrados marcadores morfológicos que justificassem tais agrupamentos. De acordo com os critérios utilizados, o clado C, onde situam-se duas populações brasileiras, foi o mais bem suportado e Rindi et al. (2009) tentaram explicar a razão deste agrupamento com base na origem das populações/cepas predominantemente em clima temperado. Nelsen et al. (2011), entretanto, argumentaram que suas análises incluíram outros elementos de clima tropical ao clado, invalidando a explicação anterior sobre a afinidade entre os componentes do grupo. Os dados ora obtidos reforçam a observação de Nelsen et al. (2011).

As populações estudadas refletem algumas incongruências entre os marcadores morfológicos e os resultados moleculares. Populações de *T. arborum* de diferentes regiões brasileiras (provenientes desse estudo) e de outras regiões mundiais aparecem agrupadas em um mesmo clado (A1) bem suportado. Entretanto essa espécie é encontrada em diferentes ramos internos separados, sendo agrupadas com outras espécies ou gêneros, indicando a polifilia da espécie, segundo dados moleculares.

Trentepohlia arborum é uma das espécies da ordem mais bem distribuídas, especialmente em regiões tropicais, pois foi registrada em todos os estudos realizados nessas localidades. Segundo RINDI et al. (2009), a identidade morfológica desses

organismos está inadequada, sendo que, a polifilia de *T. arborum* deve ser explicada, pela existência de espécies crípticas, evoluídas por meio de convergência morfológica.

Trentepohlia abietina também é uma espécie bastante registrada, tanto em regiões tropicais como em regiões temperadas. As duas populações de *T. abietina* estudadas, uma de Campos do Jordão e outra do Parque Nacional do Itatiaia, posicionaram-se proximamente, constituindo um clado robusto (A2). Contudo, ambas estão bastante distantes da população *T*. cf. *abietina* (FJ534603, Espanha), que, por sua vez, apresenta um posicionamento isolado na árvore e deve demandar análise mais aprofundada, sendo essa a única sequência do gene rbc*L* disponível no banco para comparação. Além disso, a população espanhola esta denominada como *T*. cf. *abietina*, ou seja, com possibilidade de não se tratar da mesma espécie.

A posição de *T. abietina* var *tenue* na filogenia também representa mais uma incongruência entre dados moleculares e morfológicos. Por serem da mesma espécie, era esperado que a variedade *tenue* fosse próxima da variedade *abietina* em termos moleculares, mas os valores de divergência entre as sequências são muito altos (Tabela 6), podendo ser inclusive tratadas como de gêneros distintos. A variedade *tenue* foi descrita por Cribb (1970), sendo os organismos caracterizados por apresentarem espessamentos bem desenvolvidos na parede da maioria das células apicais e rugosidades nas paredes celulares. Tanto Cribb (1970) como Rindi et al. (2006) notaram a variabilidade da presença dessas características, podendo se desenvolver ou não, dependendo das condições ambientais. Nesse estudo, a espécie geneticamente mais próxima a essa variedade foi *T. flava*, que também pode desenvolver rugosidades nas paredes celulares (RINDI et al., 2006). As características morfométricas apresentadas por essa população de *T. abietina* var. *tenue* foi correspondente àquelas encontradas na literatura (ver Capítulo II) e o fato dessa variedade ser mais semelhante morfologicamente com outras espécies enfatiza que a circunscrição intraespecífica do grupo também é confusa.

Trentepohlia cf. *chapmanii* teve como grupo-irmão *P. lagenifera*, sendo o clado formado pelas duas espécies com baixo valor de suporte. *Trentepohlia chapmanii* foi descrita por Rindi & López-Bautista (2007), com base em critérios morfológicos. O presente estudo confirmou a identidade genética dessa espécie, pois as caracteríticas moleculares dessa espécie foram diferentes das demais utilizadas para a construção da filogenia.

Trentepohlia sp. não foi similar morfologicamente a nenhuma espécie descrita em literatura, não tendo sido também encontrados correspondentes moleculares. Esse resultado corrobora outros trabalhos que apontam a alta diversidade do grupo e o seu desconhecimento em regiões tropicais (RINDI et al., 2008; RINDI et al., 2009). Essa população, portanto, deve constituir uma nova espécie para a ciência.

Além de conflitos entre espécies e variedades, a topologia revela inconsistências também no nível genérico, abrangendo todos os gêneros apresentados na árvore (*Trentepohlia*, *Printzina* e *Cephaleuros*). As populações de *T.* cf. *chapmanii* e *T. abietina* brasileiras apareceram próximas de espécies de *Printzina,* o que se repete com populações provenientes de outras localidades.

A validade do gênero *Printzina* vem sendo discutida desde sua proposição por Thompson & Wujek (1992). Esses autores transferiram algumas espécies do gênero *Trentepohlia*, para *Printzina*, baseando-se em critérios morfológicos e ecológicos não bem definidos. Estudos moleculares não confirmam a separação entre os dois gêneros (RINDI et al., 2009) e trabalhos morfológicos (RINDI et al., 2005) relatam a sobreposição de características morfológicas entre os dois gêneros, sugerindo a extinção de *Printzina* e o retorno das espécies ao gênero *Trentepohlia*.

Segundo López-Bautista et al. (2006), a validade de muitas características morfológicas usadas para a separação de espécies e gêneros é duvidosa e estudos recentes sobre sistemática molecular de espécies da ordem usando 18S rDNA indicam que os critérios morfológicos tradicionalmente usados para separar gêneros e espécies não são corretamente relacionados com padrões filogenéticos (LÓPEZ-

BAUTISTA et al., 2006). Embora as análises moleculares e morfológicas apresentadas nesse estudo reflitam uma pequena parte do grupo, os dados corroboram outros estudos, à medida que demonstram que a filogenia das Trentepohliales ainda não esta bem definida. Grande parte desses problemas pode ser atribuído à morfologia relativamente simples dos organismos, além da grande plasticidade morfológica relacionada a fatores ambientais, o que torna as Trentepohliales um grupo taxonomicamente complexo, com uma difícil e confusa distinção de espécies e gêneros (HARIOT, 1889; RINDI & GUIRY, 2002; LÓPEZ-BAUTISTA et al., 2007).

Os resultados obtidos no presente estudo, e em outros disponíveis na literatura, deixam evidente que a base taxonômica e as relações evolutivas entre os membros das Trentepohliales são ainda pobremente entendidas. A análise geral da árvore filogenética apresentada permite avaliar que ainda são necessários muitos estudos, sendo que a inclusão de mais sequências (em especial de ambientes tropicais) e a utilização de novos marcadores poderão contibuir para obtenção de filogenias mais robustas e estabelecimento de uma classificação mais adequada para as Trentepohliales. A filogenia produzida representa, ainda, um esforço inicial do entendimento da história evolutiva, mas que deverá contribuir com estudos futuros para a reestruturação de gêneros e espécies do grupo. Neste aspecto, além do acréscimo de informações moleculares, é importante o confronto com as características morfológicas, para avaliação dos critérios mais adequados à taxonomia do grupo.

5. Referências bibliográficas

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v. 19, p. 716-723, 1974.

ALTSCHUL, S.F.; WARREN, G.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.

CARDON, Z.G.; GRAY, D.W.; LEWIS, L.A. The green algal underground: evolutionary secrets of desert cells. **BioScience**, v. 58, p. 114-122, 2008.

CRIBB, A.B. A revision of some species of *Trentepohlia* especially from Queensland. **Proceedings of the Royal Society of Queensland**, v. 82, p. 17–34, 1970.

EWING, B.; GREEN, P. Base-calling automated sequencer traces using Phred. II Error probabilities. **Genome Research**, v. 8, p.186-194, 1998.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M.C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment. **Genome Research**, v. 8, p. 175-185, 1998.

FRÖHLICH, J.; KÖNIG, H. New techniques for isolation of single prokaryotic cells. **Microbiology Reviews**, v. 24, p. 567-572, 2000.

GORDON, D.; ABAJIAN, C.; GREEN, P. Consed: a graphical tool for sequence finishing. **Genome Research**, v. 8, p. 195-202, 1998.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium ser.**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HAMBY, R.K.; SIMS, L.; ISSEL, L.; ZIMMER, E. Direct ribosomal RNA sequencing: optimization of extraction and sequencing methods for work with higher plants. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 6, 175–192, 1988.

HARIOT, P. Note sur le genre *Cephaleuros*. **Journal de Botanique [Morot]**, v. 3, p. 274–276, p. 284–288, 1889.

HUELSENBECK, J.P.; RONQUIST, F.; NIELSEN, R.; BOLLBACK, J.P. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. **Science**, v. 294, p. 2310-2314, 2001.

LEWIS, L.A.; MCCOURT, R.M. Green algae and the origin of land plants. **American Journal of Botany**, v. 91, v. 1535-1556, 2004.

LEWIS, L.A. Chlorophyta on land: independent lineages of green eukaryotes from arid lands. In: SECKBACH J. **Algae and cyanobacteria in extreme environments**. Dordrecht, Netherlands: Springer, p. 571-582, 2007.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; CHAPMAN, R.L. Phylogenetic affinities of the Trentepohliales inferred from small-subunit rDNA. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 2099-2106, 2003.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; WATERS, D.A.; CHAPMAN, R.L. The Trentepohliales revisited. **Constancea** 83 http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/lopez_etal/trentepohliales.html. 2002. Acessado em 27/05/2010.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; CASAMATA, A.D. The systematics of subaerial algae. In: SECHBACH, J. **Cell origin, Life in Extreme *habitat*s and Astrobiology. Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments**. Netherlands: Springer, v. 11, p. 601-617, 2007.

LÓPEZ-BAUTISTA, J.M.; RINDI, F.; GUIRY, M.D. Molecular systematics of the green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p. 1709–1715, 2006.

MEDLIN, L.; ELWOOD, H.J.; STICKEL, S.; SOGLIN, M.L. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA coding regions. **Gene**, v. 71, p. 491-499, 1988.

NELSEN, M.P.; PLATA, E.R.; ANDREW, C.J.LÜCKING, R.; LUMBSCH, H.T. Phylogenetic diversity of Trentepohliacean algae associated with lichen-forming fungi. **Journal of Phycology**, v. 47, p. 282-290, 2011.

NOZAKI, H.; ITO, M.; SANO, R.; UCHIDA, H.; WATANABE, M.M.; KUROIWA, T. Phylogenetic relationship within the colonial Volvocales (Chlorophyta) inferred from *rbc*L gene sequence data. **Journal of Phycology**, v. 31, p. 970-979, 1995.

POSADA, D.; CRANDALL, K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, v. 14, p. 817-818, 1998.

PRINTZ, H. Subaerial algae from South Africa. Kongelige Norske Videnskabers **Selskab Skrifter**, v. 1, p. 3-41, 1921.

PRINTZ, H. Vorarbeiten zu einer Monographie der Trentepohliaceen. **Nytt Magasin for Naturvidenskapene**, v. 80, p. 137-210, 1939.

RINDI, F.; GUIRY, M.D. Diversity, life history and Ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban *habitat*s in Western Ireland. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 39-54, 2002.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Panama. **Nova Hedwigia**, v. 87, p.421-444, 2008.

RINDI, F.; LAM, D.W.; LÓPEZ-BAUTISTA, J.M. Phylogenetic relationships and species circumscription in *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta). **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v. 52, p. 329-339, 2009.

RINDI, F.; SHERWOOD, A.R. & GUIRY, M.D. Taxonomy and distribution of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in the Hawaiian Islands. **Phycologia**, v. 44, p. 270-284, 2005.

SOGIN M.L. 1990. Amplification of ribosomal RNA genes for molecular evolution studies. In: INNES, M.A.; GELFAND, D.H.; SNISNKY J.J.; WHITE T.J. **PCR protocols. A guide to methods and applications**. San Diego, CA: Academic Press, p. 307–314.

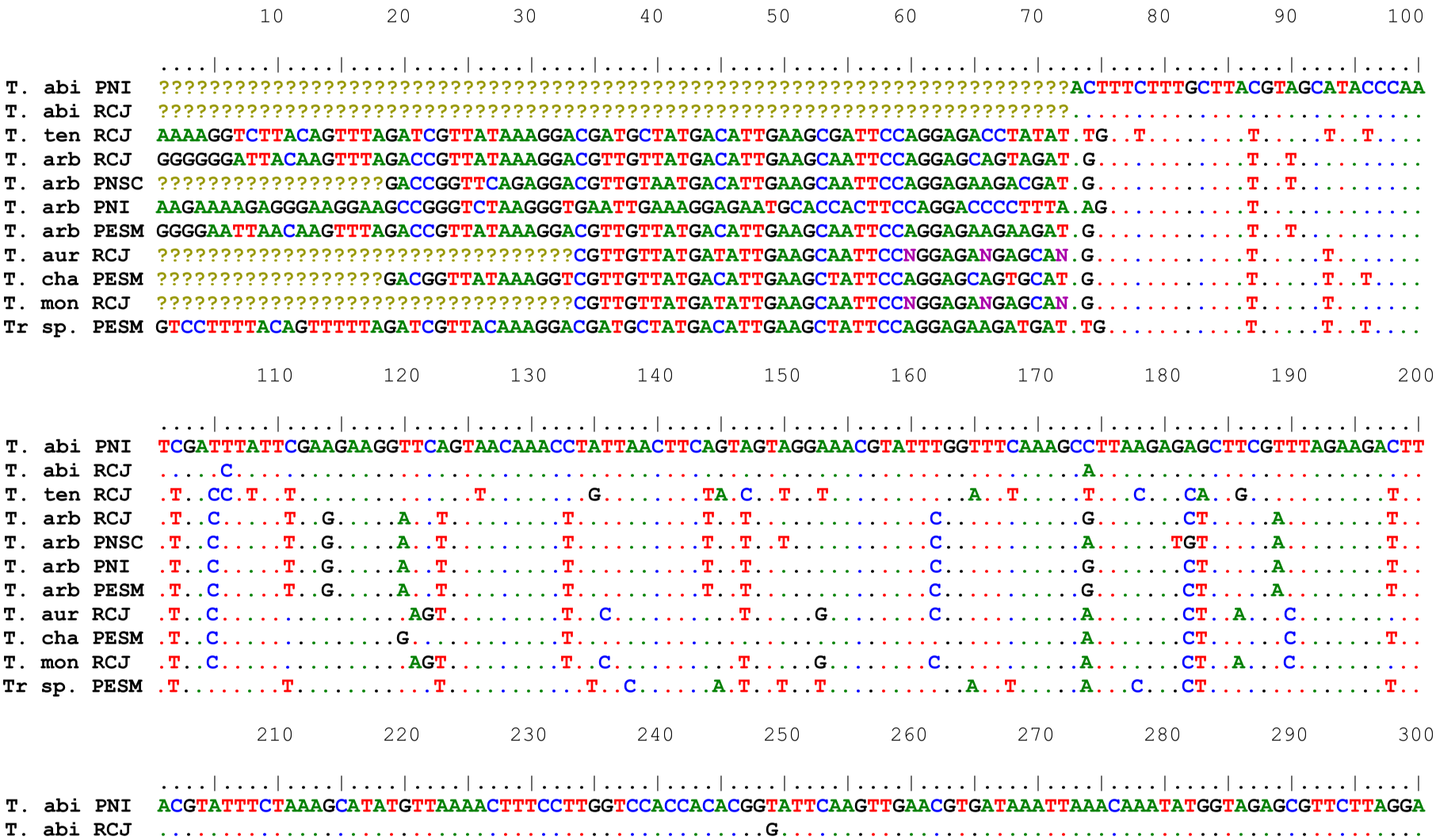
TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., KUMAR, S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood,

Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, p. 2731-2739, 2011.

THOMPSON, R.H.; WUJEK, D.E. **Trentepohliales: *Cephaleuros*, *Phycopeltis*, and *Stomatochroon*. Morphology, Taxonomy, and Ecology**. India, Science Publishers, 1997. 149 p.

ZURAWSKI, G.; CLEGG, M.T. Evolution of higher-plant chloroplast DNA-encoded genes: implications for structure-function and phylogenetic studies. **Annual Reviews of Plant Physiology**, v. 38, p. 391-418, 1987.

ANEXO 1: sequências parciais do gene *rbc*L de populações estudadas.



T. ten RCJ
T. arb RCJ
T. arb PNSC
T. arb PNI
T. arb PESM
T. aur RCJ
T. cha PESM
T. mon RCJ
Tr sp. PESM
310 320 330 340 350 360 370 380 390 400
T. abi PNI TGTACAATTAAACCAAAATTAGGACTTTCAGCTAAAAACTACGGTCGTGCTTGTTATGAATGTTTACGTGGAGGATTAGATTTCACAAAAGACGATGAAA
T. abi RCJ
T. ten RCJ
T. arb RCJ
T. arb PNSC
T. arb PNI
T. arb PESM
T. aur RCJ
T. cha PESM
T. mon RCJ
Tr sp. PESM
410 420 430 440 450 460 470 480 490 500
T. abi PNI ATGTAAACTCACAACCCTTCATGCGCTGGAGAGACCGTTTTGCGTTTGTAGCAGAAGGAATTTTCAAATCACAAGCTGAAACTGGAGAAATTAAAGGACA
T. abi RCJ
T. ten RCJ
T. arb RCJ
T. arb PNSC
T. arb PNI
T. arb PESM
T. aur RCJ

T. cha PESM
T. mon RCJ
Tr sp. PESM
510 520 530 540 550 560 570 580 590 600
T. abi PNI
T. abi RCJ
T. ten RCJ
T. arb RCJ
T. arb PNSC
T. arb PNI
T. arb PESM
T. aur RCJ
T. cha PESM
T. mon RCJ
Tr sp. PESM
610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
T. ab PNI
T. abiRCJ
T. ten RCJ
T. arb RCJ
T. arb PNSC
T. arb PNI
T. arb PESM
T. aur RCJ
T. cha PESM
T. mon RCJ
Tr sp. PESM
710 720 730 740 750 760 770 780 790

```
                ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|...
T. abi PNI      GTATCCATGGTATTCACTTCCGTGTTTTAGCTAAAACCTTAAGAATGTCAGGAGGAGACCACTTACATTCTGGAACAGTTGTTGGTAAAACC??????
T. abi RCJ      .....................................A.....................................G...A..A.....TAAAAAG
T. ten RCJ      ....T..C.....G........A..............A...C.......T..G..T.....................T........A....ATAAAAAG
T. arb RCJ      ...A.........................A.....A......C.T..T.................C.............A..A....TTAGAAAG
T. arb PNSC     ........................C?????????????????????????????????????????????????????????????????
T. arb PNI      .......A.C.....T.G...T...C?????????????????????????????????????????????????????????????????
T. arb PESM     ...A.........................A.....AC.....C.TGTTCTG...TGGA.A??????????????????????????????????
T. aur RCJ      ...A...CN.....................A.....AC.....C.T..T.....G...........C..N---TTT....CG.AGGGG.TTAACAGT
T. cha PESM     ...A...................A?????????????????????????????????????????????????????????????????
T. mon RCJ      ...A...CN.....................A.....AC.....C.T..T.....G...........C..N??????????????????????????
Tr sp. PESM     ....T..C.....G........A............G.A...C..T.A.TTCCT..G?????????????????????????????????????
```

Conclusões gerais

Conclusões gerais

Os principais objetivos desse estudo foram atingidos e a maior parte das hipóteses formuladas foi confirmada. A flora encontrada nos biomas brasileiros, especialmente em floresta ombrófilas, foi rica e é comparável àquelas encontradas em outros levantamentos para regiões tropicais. No total, foram registrados 33 táxons específicos e infraespecíficos, sendo que destes, 13 correspondem a novos registros ou possíveis novos registros e outros sete permanecem sem identificação, podendo representar novas espécies para a ciência.

Representantes dos gêneros *Trentepohlia* e *Printzina* foram abundantemente observados nas áreas estudadas, exceto no Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, onde nenhum membro com morfologia filamentosa foi encontrado. A hipótese de novos registros de ocorrência de espécies desses gêneros para o Brasil foi corroborada, sendo que uma espécie de *Printzina* e quatro espécies de *Trentepohlia* foram reportadas pela primeira vez no território nacional e, caso confirmadas as identidades, outras três espécies de *Trentepohlia* constituirão novas ocorrências. Além disso, foram observados espécimes que não se enquadraram nas descrições presentes na literatura e são considerados novos táxons, que deverão ser propostos em breve.

O levantamento da Trentepohliales pseudoparenquimatosas também seguiu os padrões de riqueza de outras áreas tropicais e, considerando que levantamentos desse grupo ainda não haviam sido feitos no Brasil, quase a totalidade de espécies encontradas constituem novos registros de ocorrência, corroborando com a hipótese formulada neste estudo. A flora do grupo mostrou-se bastante representativa nas áreas amostradas, com especial destaque para os representantes de *Phycopeltis*. Espécies de *Stomatochroon* não foram encontradas, contrariando uma das hipóteses elaboradas, porém concordando com resultados de outros levantamentos realizados para o grupo, onde espécimes desse gênero não foram reportados.

Com relação à distribuição das espécies, verificou-se que áreas com características ambientais semelhantes, principalmente quanto à umidade e irradiância, apresentam composição florística semelhante, como foi o caso das regiões ocupadas por floresta ombrófila densa. Os resultados de distribuição sugerem ainda que, o fator umidade é o mais limitante para ocorrência de espécies, já que áreas com umidade baixas, como o Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, tiveram uma baixa riqueza de espécies.

Entre as formas epífitas, grande parte não apresentou especificidade com relação ao hospedeiro, exceto *C*. cf. *parasiticus*, que foi sempre observada em áreas de cerrado e sobre folhas de *Kielmeyera* sp.

Contrariando a hipótese proposta constante no projeto, a distribuição de espécies mostrou-se constante nas áreas onde foram feitas avaliações no gradiente altitudinal, sendo que, na escala estudada, não houve diferença significativa nas condições ambientais que pudesse resultar em seleção das espécies.

Os estudos morfológicos e moleculares reforçaram que a circunscrição das espécies de Trentepohliales é ainda bastante confusa, especialmente aquelas pertencentes aos gêneros *Printzina* e *Trentepohlia*. Os marcadores morfológicos utilizados parecem não refletir a história evolutiva do grupo e os dados moleculares existentes ainda são insuficientes para uma proposição mais adequada da filogenia.

Grande parte das sequências disponíveis para o grupo diz respeito ao gene 18S rDNA, no entanto, esse marcador mostra-se pouco informativo para níveis taxonômicos inferiores. O banco de dados possui também um número menor de sequências de *rbc*L, sendo que estas ainda se referem somente a uma parte de gene. Os resultados do presente trabalho e de estudos moleculares realizados anteriormente (perceptível pela pequena quantidade e tamanho de sequências disponíveis) demonstram a dificuldade em trabalhar com os organismos desse grupo.

De modo geral, os resultados das avaliações morfológicas e moleculares indicam que novos dados precisam ser gerados para uma melhor resolução

taxonômica desse grupo. Novos esforços devem ser feitos para incluir outros marcadores moleculares (p. ex., o espaçador transcrito interno, ITS), além de aprimorar os dados existentes do gene *rbc*L e aumentar o número de sequências para a comparação.

Esse estudo pode ser considerado a primeira avaliação de Trentepohliales em uma área geograficamente ampla do Brasil, com diferentes abordagens e poderá dar subsídios para futuros estudos com o grupo.