

KHEY ALBERT DE AZEVEDO FONTES

**TAXONOMIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO *BOSTRYCHIA*
MONTAGNE (CERAMIALES-RHODOPHYTA) NOS MANGUEZAIS DO
LITORAL BRASILEIRO.**

Recife
2012

KHEY ALBERT DE AZEVEDO FONTES

**TAXONOMIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO *BOSTRYCHIA*
MONTAGNE (CERAMIALES-RHODOPHYTA) NOS MANGUEZAIS DO
LITORAL BRASILEIRO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB), da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo doutorando Khey Albert de Azevedo Fontes, como parte dos requisitos para obtenção de título de Doutor em Botânica.

Orientador: Dra. Sonia Maria Barreto Pereira
Co-orientador: Dra. Mariana Cabral de Oliveira

Recife
2012

**TAXONOMIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO *BOSTRYCHIA*
MONTAGNE (CERAMIALES-RHODOPHYTA) NOS MANGUEZAIS DO
LITORAL BRASILEIRO.**

KHEY ALBERT DE AZEVEDO FONTES

Tese aprovada pela banca examinadora:

Orientadora: _____

Dra. Sonia Maria Barreto Pereira – UFRPE

Presidente

Examinadores: _____

Dra. Adilma L. M. Cocentino - UFPE

Dra. Angélica V. Valois Montarroyos - UFRPE

Dra. Maria de Fátima de Oliveira Carvalho - UFRPE

Dra. Ariadne do Nascimento Moura - UFRPE

Data de Aprovação:

Dedico este trabalho à minha querida
mãe Rosagraça Azevedo Fontes.

“Tudo o que existe é de uma grande exatidão. Pena é que a maior parte do que existe com essa exatidão nos é tecnicamente invisível. O bom é que a verdade chega a nós como um sentido secreto das coisas. Nós terminamos adivinhando, confusos, a perfeição”

Clarice Lispector

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-graduação em Botânica (PPGB/UFRPE) pela oportunidade concedida

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo através do PPGB/UFRPE

À Dra. Sonia Maria Barreto Pereira, pela orientação, apoio e carinho.

À Dra. Mariana Cabral de Oliveira, pela valiosa colaboração dispensada no desenvolver do trabalho.

À Dra. Ariadne Moura, pela atenção e ajuda carinhosas

À Dra. Lísia Gestinari, pela preciosa avaliação textual

À Dra. Enide Eskinazi Leça por toda ajuda, apoio e carinho recebidos.

À Dra. Maria de Fátima de Oliveira Carvalho, pelas valiosas avaliações e sugestões.

Aos meus eternos amigos do Laboratório de Ficologia, pelos momentos de graça, companheirismo, turbulências e muitas alegrias: Fátima, Andrea, Vanessa, Douglas, Fernando, Nahum, Maiara, Maria Elisabeth.

À minha família que sempre, incondicionalmente, me apoiou em todos os momentos: minha mãe Rosagraça, meus irmãos e irmãs, minhas tias, primos e sobrinha.

A Deus, sempre...

RESUMO

Os estudos taxonômicos baseados apenas em caracteres morfológicos não apresentam total eficácia na separação de linhagens das espécies do gênero *Bostrychia* Mont., um componente importante da associação de macroalgas epífitas de manguezal de nominada de “Bostrychietum”. Os dados obtidos através de métodos em biologia molecular têm se mostrado cada vez mais eficientes na determinação de grupos com regular parentesco. Desta forma, os dados frequentemente extrapolam a classificação tradicional deste gênero, caracterizando uma grande ocorrência de haplótipos reprodutivamente incompatíveis muito embora de origem relativamente próxima. Considerando a elevada plasticidade morfológica de seus representantes em nível infragenérico, a presente pesquisa teve como objetivo apresentar a taxonomia e a distribuição geográfica das espécies do gênero *Bostrychia* ocorrentes nos manguezais do litoral brasileiro. Os estudos morfoanatômicos foram baseados em material coletado em diversos manguezais do litoral brasileiro, além de material depositado em herbários nacionais indexados. As amostras foram coletadas com o auxílio de espátula. Para a abordagem taxonômica, foram fixadas em solução de formol (4%), neutralizadas com bórax (1%) e devidamente acondicionadas em tubos de falcon (50ml). Para a abordagem molecular, foram imediatamente acondicionadas em tubos de falcon (50ml) contendo etanol P. A., foram retiradas pequenas amostras das partes mais jovens dos espécimes e acondicionadas em sílica gel. A identificação dos táxons seguiu os critérios taxonômicos tradicionais através de consulta a bibliografia pertinente. Aliado aos estudos taxonômicos foram utilizados como ferramenta auxiliar marcadores moleculares (UPA, *cox1* e *rbcL*) visando entender melhor o polimorfismo encontrado nas espécies de *Bostrychia*. Foram identificadas seis espécies de *Bostrychia* nos manguezais da costa brasileira: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. e *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. O gênero *Bostrychia* apresentou uma larga distribuição nas áreas de manguezal da costa brasileira. Duas linhagens diferentes de *B. radicans* foram observadas usando os marcadores moleculares. Dados moleculares sugerem que *B. binderi* Harv. deve ser considerada como uma entidade taxonomica diferente de *B. tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. .

ABSTRACT

The taxonomic studies based on morphological characters do not have effective success in the separation of lineages of the genus *Bostrychia*, an important component of the association of epiphytic macroalgae of mangrove denominated as "Bostrychietum." The data obtained by methods in molecular biology have proved more efficient in grouping with regular relationship. Thus, the data often go beyond the traditional classification of this genus, featuring a high occurrence of reproductively incompatible haplotype although relatively close source. Considering the high morphological plasticity of their representatives in infrageneric level, this work aimed to present the taxonomy and distribution of species of *Bostrychia* from mangroves occurring in the Brazilian coast. The morphological and anatomical studies were based on material collected in different Brazilian coastal mangroves, and exsicates deposited in indexed national herbaria. Macroalgae samples were collected with spatule. For taxonomic survey, it was fixed in phormaldehyde solution (4%), packed in falcon tubes (50 ml). For molecular survey, it was fixed in Ethanol P. A. and small pieces of the youngest parts of the plants has been extracted. It has been packed in silica gel. The identification of taxa followed the traditional taxonomic criteria through consultation with relevant bibliography. Allied to the taxonomic studies were used as auxiliary markers in order to better understand the polymorphism found in species of *Bostrychia*. We identified six species of *Bostrychia* in mangroves of the Brazilian coast: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. and *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. The genus *Bostrychia* Mont. showed a wide distribution in the mangrove areas of the Brazilian coast. Two different lineages of *B. radicans* were observed using molecular markers. Molecular data suggest that *B. binderi* Harv. should be considered as a taxonomic entity from *B. tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh.

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
1. Introdução.....	10
2. Objetivos.....	14
3. Hipótese.....	14
4. Revisão da Literatura.....	15
5. Referências Bibliográficas.....	28
Artigo I: O gênero <i>Bostrychia</i> Montagne (Ceramiales – Rhodophyta) nos Manguezais Brasileiros: taxonomia e distribuição geográfica. – Manuscrito a ser enviado para a Revista Acta Botânica Brasilica.....	36
Introdução.....	38
.	
Material e Método.....	39
Resultados.....	40
Discussão.....	47
Agradecimentos.....	50
Referências Bibliográficas.....	50
Documentos Suplementares.....	54
Artigo II: Diversidade de espécies do gênero <i>Bostrychia</i> Montagne ocorrentes em áreas de manguezal da costa brasileira baseada em marcadores moleculares - Manuscrito a ser enviado para a Revista Botanica Marina.....	66
Introdução.....	67
Material e Método.....	69
Resultados.....	72
Discussão.....	73
Agradecimentos.....	76
Referências Bibliográficas.....	76
Documentos Suplementares.....	81
6. Considerações Finais.....	92

1. Introdução

O manguezal é um sistema ecológico predominantemente tropical restrito a estreitas faixas costeiras (WALSH, 1974). Nele ocorrem importantes associações de macroalgas crescendo como epífitas em pneumatóforos, rizóforos e troncos das árvores dos gêneros *Avicennia* L., *Rhizophora* L. e *Laguncularia* Gaertn denominadas inicialmente por Post (1936) como “Bostrychietum”. Essas associações incluem cianobactérias e clorofíceas, contudo há marcada predominância de rodofíceas, mais precisamente dos gêneros *Bostrychia* Mont., *Caloglossa* (Harv.) G. Martens e *Catenella* Grev. (PEDROCHE *et al.*, 1995).

No Brasil, esses ecossistemas apresentam área aproximada de 10.136.720 km², estendendo-se desde norte no Cabo Orange até o sul de Santa Catarina (HERZ, 1991). Nestas áreas, o “Bostrychietum” tem grande importância ecológica como produtor de oxigênio, abrigo para muitos animais do manguezal, além de ser indicador de águas limpas (BURKHOLDER; ALMODOVAR, 1974; PEREIRA, 2000). Algumas espécies podem ser utilizadas como indicadores de poluição (MIRANDA; PEREIRA, 1989; FORTES, 1992).

Existe hoje grande interesse sobre a distribuição das macroalgas associadas a manguezais, especialmente sobre as espécies de *Bostrychia*, portanto, esse gênero tem sido extensivamente estudado em termos de sua fisiologia (KARSTEN; KIRST, 1989), especialmente tolerância à variação de salinidade (YARISH; EDWARDS, 1982) e conteúdos de solutos compatíveis como Dulcitol, Sorbitol e Manitol (KARSTEN *et al.* 1992, 1993, 1994), além de sua biogeografia (ZUCCARELLO; WEST 1995, 1997, 2002, WEST; ZUCCARELLO, 1999; ZUCCARELLO *et al.*, 1999).

O gênero *Bostrychia* pertence à família Rhodomelaceae (Rhodophyta) sendo constituído por indivíduos com larga distribuição em águas tropicais e águas temperadas frias ocorrendo em ambientes marinhos e de água doce, mas, predominantemente em manguezais, formações de “salt marshes” e alguns representantes epilíticos em frestas e fendas abrigadas de recifes e costões rochosos (KING; PUTTOCK, 1989). Compõe-se de 17 espécies (KING; PUTTOCK, 1989; ZUCCARELLO; WEST, 2006; WEST *et al.*, 2006) com talos robustos ou delicados, vermelho vináceos a enegrecidos com crescimento indeterminado no eixo principal e fixação ao substrato por meio de hapteron (KING; PUTTOCK, 1989; POST, 1936). O hapteron é formado por células rizoidais originadas de células pericentraes e corticais na parte ventral do talo. Dois tipos

principais de hapteron são encontrados entre os representantes do gênero: cladohapteron, que se origina a partir da proliferação de células pericentrais e axiais que finalizam um ramo de primeira ordem de crescimento determinado (*B. moritziana*, *B. pilulifera* e *B. radicans*) ou de crescimento indeterminado (*B. kelanensis*), e peripherohapteron, quando a estrutura se origina de células pericentrais e corticais oriundas do eixo principal (*B. calliptera*, *B. montagnei* e *B. tenella*) (KING; PUTTOCK, 1989) (Fig. 1).

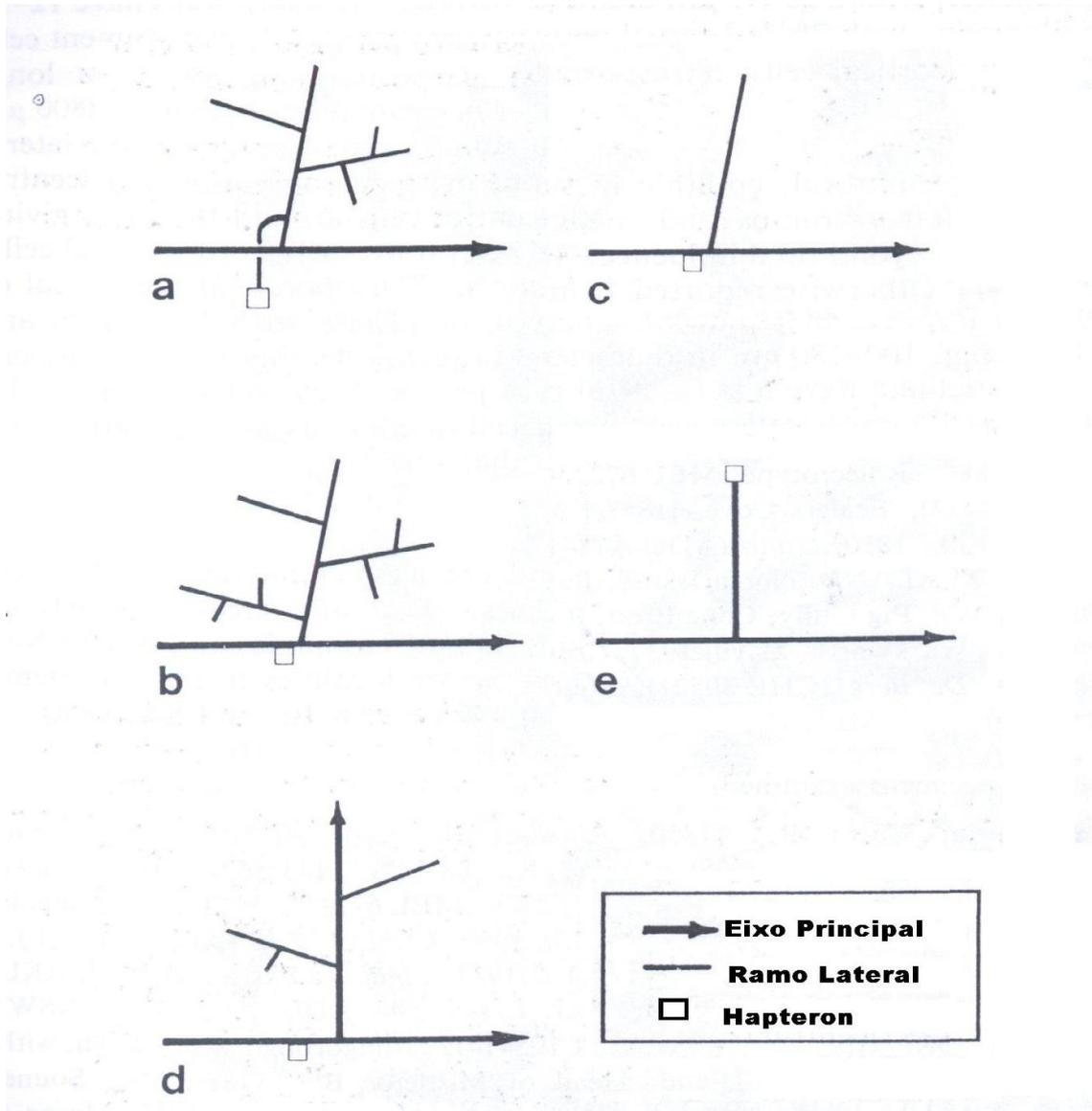


Fig. 1. Esquemas de tipos de hapteron ocorrentes em representantes do gênero *Bostrychia* Mont. modificados de King & Puttock (1989). “a” e “e”: Cladohapteron. “b”, “c” e “d”: Peripherohapteron.

Sete táxons infragenéricos apresentam registros de ocorrência nos manguezais brasileiros: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia kelanensis* Grunow ex. E. Post; *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orbigny e *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. (JOLY, 1954; TAYLOR, 1960; OLIVEIRA, 1984; PAULA *et al.*, 1989; FUJII *et al.*, 1992) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das espécies de *Bostrychia* Mont. ocorrentes na costa brasileira inseridas na Zona Domínio de Manguezais, região sugerida por Horta *et al.* (2001). Distribuição de acordo com: 1. Joly (1954); 2. Taylor (1960); 3. Oliveira (1984); 4. Paula *et al.* (1989) e 5. Fujii *et al.* (1992).

Espécies	Domínio de Manguezais			
	Região Norte	Região Nordeste	Região Sudeste	Região Sul
<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.	+ (2,3)	+ (2,3)	+ (1,2,3)	+ (1,2,3)
<i>Bostrychia kelanensis</i> Grunow ex. E. Post	-	-	+ (5)	-
<i>Bostrychia montagnei</i> Harv.	+ (3)	+ (2,3)	+ (1,2,3)	+ (3)
<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh	+ (2,3)	+ (3)	+ (3)	+ (3)
<i>Bostrychia pilulifera</i> Montagne	+ (2,4)	-	-	-
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orbigny	+ (2,3)	+ (2,3)	+ (1,2,3)	+ (2,3)
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	+ (2,3)	+ (2,3)	+ (1,3)	+ (3)

+ presença, - ausência

Apesar de King e Puttock (1989) terem realizado uma importante revisão taxonômica do gênero resolvendo problemas e descrevendo novas espécies, há vários problemas relacionados à sistemática dos táxons infragenéricos de *Bostrychia*, o que vêm causando muita controvérsia em sua identificação. Algumas espécies compartilham caracteres morfológicos similares e os critérios taxonômicos usados para a diferenciação infragenérica quase sempre se sobrepõem em diversos representantes. Além disso, as espécies apresentam, geralmente, uma plasticidade morfológica elevada. *B. radicans*, uma das espécies com ampla distribuição, é diferenciada de *B. moritziana* apenas por não apresentar ramos monosifônicos de última ordem (KING; PUTTOCK, 1989). Esta característica foi contestada por Zuccarello e West (1995) tendo em vista que este

critério mostrou grande variabilidade em isolados cultivados de *B. radicans*, além de não apresentar correlações monofiléticas entre as linhagens destes taxóns (ZUCCARELLO; WEST, 2003).

Apesar de caracteres morfológicos não apresentarem total eficácia na separação de linhagens, dados obtidos através de métodos em biologia molecular têm se mostrado cada vez mais eficientes na determinação de grupos com regular parentesco. Desta forma, os dados frequentemente extrapolam a classificação tradicional das espécies deste gênero, caracterizando uma grande ocorrência de haplótipos reprodutivamente incompatíveis, muito embora de origem relativamente próxima (ZUCCARELLO; WEST, 2003).

Com o advento de técnicas em biologia molecular visando a elucidação de problemas taxonômicos de várias espécies crípticas de grupos marinhos (KNOWLTON, 1993), uma maior compreensão da biogeografia de variantes genéticas tem-se mostrado de grande valor na solução de problemas taxonômicos, principalmente por vários estudiosos que abordam a taxonomia do gênero *Bostrychia* (KARSTEN *et al.* 1993; ZUCCARELLO *et al.*, 1999; ZUCCARELLO; WEST, 1997, 2003, 2006).

Apesar de Zuccarello e West (2003) terem trabalhado com isolados do complexo "*B. radicans/B. moritziana*" coletados em manguezais brasileiros (Ilha do Cardoso, SP e Trindade, RJ), até a presente data, no Brasil, nenhum trabalho utilizando marcadores moleculares foi realizado com os representantes de *Bostrychia*. Por se tratar de um gênero bastante polimórfico, a utilização de marcadores moleculares é de grande importância para os representantes deste gênero no intuito de elucidar problemas taxonômicos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Apresentar a taxonomia e a distribuição dos táxons infragenéricos do gênero *Bostrychia* em manguezais brasileiros.

2.2. Objetivos Específicos:

Identificar, descrever e ilustrar os representantes do gênero *Bostrychia* em áreas de manguezal do litoral brasileiro;

Utilizar a biologia molecular como ferramenta auxiliar na delimitação taxonômica das espécies que exibem polimorfismo;

Apresentar a distribuição geográfica dos táxons infragenéricos para manguezais do litoral brasileiro.

3. Hipótese

O marcado polimorfismo existente entre os representantes do gênero *Bostrychia* tem dificultado uma identificação taxonômica segura. Com a utilização da biologia molecular é possível uma delimitação correta dos táxons infragenéricos.

4. Revisão da Literatura

4.1. Mundial

Falkenberg (1901) evidenciou o gênero *Bostrychia* como pertencente à tribo *Bostrychiae* juntamente com os gêneros *Wilsonaea* Schimitz e *Colaconema* Schimitz, no entanto, somente a partir de 1936, as espécies de *Bostrychia* receberam maior atenção por parte dos pesquisadores quando Post apontou, pela primeira vez, a predominância deste gênero na associação que denominou de “Bostrychietum”.

Os trabalhos de Post (1936, 1939) foram decisivos para o estabelecimento da maioria dos nomes das espécies de *Bostrychia*. Através de avaliação e análise de espécimens de herbário e comunicação com ficólogos de todo o mundo, a pesquisadora reagrupou diversas espécies pertencentes ao gênero antes tidas como fracamente aparentadas com outras espécies de outras categorias taxonômicas (KING; PUTTOCK, 1989). Nos trabalhos supracitados, Post dividiu o gênero em dois grupos distintos baseados no tipo de hapteron: Os *Flagellifulcratae*, espécies que produzem peripherohaptera, e os *Ramifulcratae*, referentes às espécies que produzem cladohaptera (ZUCCARELLO; WEST, 2006).

Em suas abordagens, Post não aceitou a divisão da sub-família em dois gêneros distintos (*Bostrychia* e *Stictosiphonia*) proposta por Falkenberg (1901). Este autor se baseou no número de camadas celulares originadas por cada célula pericentral, enquanto que para a autora, o critério tipo de hapteron é mais adequado. A pesquisadora chamou atenção para a grande variação na morfologia de algumas espécies, com base na análise de um grande número de espécimens provindos de variadas partes do mundo. Contudo, suas conclusões nem sempre davam respostas concretas sobre a origem e as causas destas variações (KING; PUTTOCK, 1989). Com isso alguns problemas taxonômicos persistiram, como por exemplo, a estreita divergência entre as espécies do “Complexo *B. tenella*” bem como as espécies relacionadas do “Complexo *B. radicans/B. moritziana*”. Infelizmente, Post não observara estritamente as regras de nomenclatura botânica vigentes. Este fato contribuiu consideravelmente para que a confusão sobre a sinonímia de algumas espécies persistisse (KING; PUTTOCK, 1989).

Kylin (1956), apesar de concordar com vários aspectos taxonômicos apresentados por Falkenberg (1901), como a classificação das espécies em uma tribo distinta, afirmava que o grupo das *Bostrychia* compartilhava características bastante peculiares e, portanto, defendia que todos os outros gêneros fossem retirados dos

Bostrychiae. Segundo este autor, a organização dorsiventral, a ramificação alterno dística, bem como o padrão de desenvolvimento do talo (“long and short shoots”) parcial ou completamente polissifônico levaram o pesquisador a retirar da tribo tanto os gêneros reconhecidos por Falkenberg, como também do gênero *Holotrichia* Schmitz, incluído anteriormente por De Toni (1900).

Posteriormente, Hommersand (1963) chamou a atenção para as particularidades das espécies e propôs a subfamília Bostrychioideae. Dentre várias características diagnósticas, duas foram bastante enfatizadas em sua abordagem: a presença tanto de “pit connections” secundários no carposporófito quanto a de um conjunto de células estéreis que serviriam como células de cobertura logo após a fertilização (“single sterile group”). King e Puttock (1989) em sua revisão para a subfamília, não observaram a presença dos “pit connections” em nenhuma das cinco espécies férteis analisadas, enquanto que Parsons (1975) questionou a importância taxonômica do “single sterile group” por não considerar esta característica uma exclusividade dos Bostrychioideae.

Anteriormente, os pesquisadores do gênero *Bostrychia* já haviam observado a enorme variação das espécies e assim buscavam elucidar as causas desta variação. King *et al.* (1988), verificaram a grande variação morfológica das espécies do “Complexo das Tenellas” que apresentavam quatro espécies proximamente relacionadas (*B. tenella*, *B. binderi*, *B. binderi* f. *terrestris* (J. Agardh) Post e *B. flagellifera* Post) e propuseram a redução do complexo para apenas duas subespécies: *B. tenella* subsp. *tenella* e *B. tenella* subsp. *flagellifera*. Para estes autores, estas duas subespécies se diferenciavam por duas características importantes, o número de células axiais entre cada ramo lateral originado no ramo principal e uma diminuição na ramificação apresentando uma “frouxidão” do talo.

A análise de exemplares de diversos herbários possibilitou aos autores observarem que os critérios vegetativos frequentemente utilizados não eram suficientes para separar as espécies. As análises multivariada, de variância e de função discriminante, não apresentaram nenhum agrupamento conclusivo. O único critério que parecia apresentar uma importância taxonômica mais efetiva para diferenciar *B. tenella* e *B. binderi* era a proporção da polissifonia (ramos parcialmente ou totalmente polissifônicos) nos ramos de última ordem. Contudo, este critério não era “forte” o bastante para tal separação, pois sua marcada variação observada levou os autores a considerarem as duas espécies como sendo apenas uma única espécie ocupando vários microhabitats.

King *et al.* (1988) ainda observaram que *B. flagellifera* se diferenciava das outras três espécies apenas pela “frouxidão” da ramificação e quando esta característica era desconsiderada, os grupos permaneciam próximos. Os autores ainda chamaram a atenção para o fato de que características como o padrão de ramificação além da corticação do talo apresentavam indícios de não serem bons critérios para a taxonomia do gênero *Bostrychia*, pois registraram elevada variação nos espécimens analisados. Apesar de haver consenso entre os estudiosos sobre este fato, estas duas características ainda seriam consideradas como válidas em muitas outras abordagens.

Visando um melhor esclarecimento taxonômico, King e Puttock (1989) realizaram uma importante abordagem taxonômica da subfamília Bostrychioideae. Consideraram praticamente os mesmos critérios taxonômicos de Falkenberg além de confirmar a inclusão dos gêneros *Bostrychia* e *Stictosiphonia* como legítimos, a partir de duas características importantes: padrão de crescimento do talo e número de camadas de células pericentraes para cada célula axial.

Conforme os autores acima citados, o gênero *Bostrychia* inclui onze espécies (*Bostrychia calliptera*, *Bostrychia harveyi* Mont., *Bostrychia montagnei*, *B. moritziana*, *Bostrychia pilulifera*, *Bostrychia pinnata* J. Tanaka & Chihara, *B. radicans*, *Bostrychia scorpioides* (Hud.) Mont., *Bostrychia simpliciuscula* Harv. ex J. Agardh, *B. tenella* e *Bostrychia tenuissima* R. J. King & Puttock) e duas subespécies (*B. tenella* subsp. *tenella* King et Puttock *in* King *et al.* 1988 e *B. tenella* subsp. *flagellifera* King et Puttock *in* King *et al.* 1988) com elevada distribuição em águas tropicais e temperadas. As chaves de identificação foram baseadas, principalmente, em características como a presença ou ausência de corticação (apesar da enorme variação, esta característica mostrou-se eficiente nesta abordagem), extensão da polissifonia, padrão de ramificação, presença e ausência de “swellings” (dilatação em forma de calombo usada para diferenciar espécies aparentadas de diferentes regiões) e tipo de hapteron (muito embora os autores não assumam claramente a organização em Flagelifulcrateae e Ramifulcrateae proposta por Post em 1936, esta característica mostrou-se de suma importância para a separação de vários taxa). Com isso, vários taxons foram excluídos e outros passaram a ser considerados sinônimos.

Apesar de King e Puttock (1989) observarem agrupamentos entre espécies aparentadas através de análise cladística, alguns problemas taxonômicos persistiram dentro dos complexos específicos do gênero. Características taxonômicas consideradas como secundárias não favoreciam a resolução destes problemas. Além disso, algumas

espécies eram separadas apenas por uma característica, provocando posteriormente uma discussão sobre a importância destas características na segregação sistemática. Como exemplo, pode ser citado o fato de que *B. radicans* e *B. moritziana* ainda continuam sendo diferenciadas, apenas, pela presença ou ausência de ramos monossifônicos de última ordem.

Entretanto, avanços nesta área foram alcançados e, embora a variação morfológica ainda persistia como principal dificuldade para a delimitação específica, King e Puttock (1989) obtiveram informações que evidenciaram uma clareza sistemática para o “Complexo das Tenellas”, anteriormente revisado por King *et al* (1988). As subespécies *B. tenella* subsp. *tenella* e *B. tenella* subsp. *flagelifera* foram confirmadas baseadas nas observações dos referidos autores.

Compreender o porquê de as espécies apresentarem tamanha variação e desejando que este entendimento suscitasse soluções válidas para os problemas taxonômicos apresentados pelas *Bostrychia*, o interesse dos estudiosos foi gradativamente crescente. Muitas abordagens passaram a considerar aspectos ecológicos e fisiológicos das espécies, além dos tradicionais estudos taxonômicos (PHILLIPS *et al.*, 1994; LAURSEN ; KING, 2000; DUARTE *et al.*, 2002).

Yarish e Edwards (1982) investigando a distribuição horizontal sazonal das macroalgas de New Jersey através de estudos com material de campo e de laboratório, forneceram informações imprescindíveis sobre a resposta reprodutiva de *B. radicans* frente a variações de salinidade e temperatura. Estes autores mostraram que a referida variação horizontal acompanhava a variação de salinidade ao longo do estuário do Rio Mullica. Esta espécie apresentou maior frequência, biomassa e cobertura apenas em regiões onde os valores de salinidade eram mais elevados durante os meses mais quentes, estando praticamente ausente no estuário ao longo dos meses mais frios, quando a salinidade apresentou uma variação média de 12%. Em Laboratório, também foi observado que estes parâmetros apresentaram variação significativa apenas quando a relação salinidade x temperatura era positiva, isto é, tanto biomassa, cobertura e fases reprodutivas apresentavam desenvolvimento satisfatório, apenas, em cultivares mantidos sob salinidade e temperatura elevadas.

Contudo, foi o trabalho de Davey e Woelkerling (1985) que forneceu dados fundamentais sobre a variação temporal da biomassa e cobertura das macroalgas, bem como de suas distribuições verticais e horizontais. Este trabalho serviu de base para diversas abordagens ecológicas.

Tendo em vista a importância do gênero *Bostrychia* como principal componente da biomassa algácea dos manguezais, aspectos ecológicos como distribuição vertical e horizontal, variação sazonal e cobertura além de estimativas de taxas fotossintéticas e respiratórias, foram monitorados sempre objetivando entender a variação observada (TANAKA; CHIHARA, 1987; MANN; STEINKE, 1988; PHILLIPS *et al.*, 1996; MELVILLE *et al.*, 2007).

Importantes aspectos químicos como a quantidade relativa de polióis (poliálcoois com elevados pontos de fusão e ebulição produzidos sazonalmente e provavelmente envolvidos com a osmorregulação celular), apresentados pelas espécies de *Bostrychia* têm recebido atenção especial por parte dos ficólogos (KARSTEN *et al.*, 1992; WEST *et al.*, 1992). Karsten *et al.* (1993) observaram que a ecofisiologia de *B. moritziana* tanto de ambientes dulcícolas como marinhos poderia ajudar a entender a variação existente no complexo ao qual a espécie pertence. Espécimens oriundos de manguezais australianos e venezuelanos apresentaram respostas variadas de crescimento e concentração de polióis quando cultivadas em laboratório sob diferentes condições. Além disso, até mesmo indivíduos de ambientes semelhantes (dulcícolas, por exemplo) poderiam apresentar concentrações diferentes de D-Dulcitol em relação à concentração de D-Sorbitol, ambos polióis que apresentam elevada concentração em espécies encontradas no estuário. Contudo a interpretação de sua correta distribuição ainda implicava uma série de dificuldades morfológicas e taxonômicas encontradas principalmente nas espécies mais próximas como, por exemplo, *B. calliptera* e *B. pinnata* (COLLADO-VIDES; WEST, 1996).

Pedroche *et al.* (1995) registraram a primeira ocorrência de *B. moritziana* e *B. pinnata* para áreas de manguezal da Guatemala. Os autores também discutiram a validade do critério ramos monossifônicos de última ordem para a separação entre *B. radicans* e *B. moritziana*, pois, experimentalmente, esta característica variou consideravelmente. Alguns espécimens de *B. moritziana*, ao serem cultivados em laboratório, apresentaram o desenvolvimento da completa polissifonia em seus ramos monossifônicos originais sob a maioria das condições testadas. Além disso, a quantidade de polióis nas células destas espécies também foi registrada, contudo não foi realizada uma análise aprofundada sobre os efeitos da quantidade relativa destes carboidratos de baixo peso molecular na distribuição e sazonalidade das referidas espécies.

Devido as variação morfológicas que levam a problemas na identificação dos representantes de *Bostrychia*, foi verificada a necessidade da utilização de outras ferramentas na tentativa de resolver problemas na delimitação infragenérica. A partir daí, os estudos se voltaram para a capacidade de reprodução e para a aplicação de variadas técnicas biomoleculares. A capacidade de hibridização entre populações de diferentes macroalgas mostrou-se eficiente na elucidação de problemas taxonômicos em diversos gêneros de Rhodophyta (RUENESS, 1973; GUIRY, 1992). Realizando uma abordagem com indivíduos de *B. radicans* oriundos do Pacífico e Atlântico norte-americanos, Zuccarello e West (1995) observaram que os isolados do Pacífico mexicano não apresentavam isolamento reprodutivo até um alcance de 1500 m, enquanto que os da costa atlântica norte americana apresentavam isolamento em maior grau mesmo em indivíduos com elevado grau de proximidade.

Continuando os estudos, Zuccarello e West (1997) utilizaram a filogenia do espaçador entre os genes que codificam as subunidades grande e pequena da Ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/ oxigenase (RUBISCO) para inferirem relações de proximidade entre indivíduos do Complexo *B. radicans/ B. moritziana* com larga distribuição mundial, além de correlacionarem com as capacidades de hibridização apresentadas. Eles observaram que além de dificuldade de hibridização entre isolados de *B. radicans* e *B. moritziana* de mesma origem, a abordagem possibilitou o registro de dois grandes grupos reprodutivos “interoceânicos” para *B. radicans*. O primeiro englobava espécimens oriundos do pacífico mexicano compatíveis com indivíduos venezuelanos, enquanto que o segundo, espécimens do Peru perfeitamente compatíveis com os do Brasil.

No mesmo trabalho, Zuccarello e West (1997) constataram que o sistema monossifônico composto de ramificação pode vir a ser uma característica com maior importância taxonômica do que a presença de ramos monossifônicos de última ordem para diferenciar *B. radicans* de *B. moritziana*. Isto deve-se ao fato de que os espécimens de *B. moritziana* que apresentavam o primeiro tipo de ramificação monossifônica não hibridizaram com nenhum outro espécimen, a não ser com eles mesmos, enquanto que espécimens de *B. moritziana*, que apresentavam a segunda característica, foram capazes de apresentar hibridização com espécimens de *B. radicans*. O mesmo aconteceu com os agrupamentos filogenéticos do espaçador da RUBISCO.

Zuccarello *et al.*(1999) analisando a variação no espaçador entre os genes condicionantes da RUBISCO (RUBISCO spacer) através da técnica de SSCP (Single

Stranded Conformation Polymorphism) observaram a existência de nove haplótipos diferentes em espécimens mundiais de *B. moritziana*, incluindo alguns indivíduos de *B. bispora* J. West & G. Zuccarello, espécie apomítica descrita por West *et al.* (1992) e também de *B. radicans*. Estes haplótipos também caracterizaram cinco diferentes linhagens, quatro de *B. moritziana* e *B. bispora*, e uma de *B. radicans*, quando analisados os resultados da abordagem filogenética. Os dados moleculares, além de experimentos reprodutivos levaram os autores a conclusões taxonômicas importantes, comentadas a seguir.

Uma vez que não houve diferença genética entre indivíduos assexuados e sexuados de *B. bispora* e *B. moritziana*, os pesquisadores sugerem que as duas espécies, na verdade, são conspecíficas. Para reforçar, indivíduos de *B. bispora*, uma espécie comprovadamente assexuada, desenvolveram gametófitos perfeitamente compatíveis com indivíduos sexuados de *B. moritziana* quando cultivados em laboratório.

Outra consideração importante deve-se ao fato de que os dados moleculares obtidos sugerem que indivíduos que apresentem ramos laterais monossifônicos simples ou compostos, sejam tratados taxonomicamente como *B. moritziana*. e separados de indivíduos que apresentem o talo completamente polissifônico característico de *B. radicans*, mesmo que alguns exemplares desta espécie tenham apresentado o desenvolvimento de ramos monossifônicos nas culturas laboratoriais.

A busca por elucidação da biogeografia de alguns táxons obrigou os estudiosos a descobrir também a eficiência de marcadores moleculares específicos para estudos filogenéticos de algas vermelhas. Zuccarello *et al.* (1999) sugeriram que o marcador molecular *cox2-cox3* ("Cytochrome oxidase subunit2 - Cytochrome oxidase subunit3") era eficiente para este tipo de abordagem em várias ordens diferentes de algas incluindo a Ceramiales. Além disso, neste mesmo estudo, os autores demonstraram um método biomolecular para a observação de haplótipos no gênero *Bostrychia* (SSCP – Single Stranded Conformation Polymorphism) através da análise do mesmo gene.

Zuccarello e West (2003) utilizando marcadores moleculares plastidiais (RUBISCO "spacer") e mitocondriais (*cox2-cox3* "spacer") observaram que no complexo *B. radicans*- *B. moritziana* com isolados originados de várias regiões, os haplotipos encontrados sustentam a ocorrência de pelo menos sete linhagens diferentes com variável grau de isolamento reprodutivo entre os grupos. Estas referidas linhagens poderiam indicar a existência de sete espécies crípticas dentro do complexo. A convergência entre os marcadores moleculares utilizados, o alto grau de variação nas

sequências, bem como a incompatibilidade reprodutiva apresentada por vários indivíduos oriundos das diferentes linhagens confirmam as observações dos autores. Além disso, a correlação positiva apresentada entre o isolamento reprodutivo e a variação de haplótipos do espaçador da RUBISCO ajudaram consideravelmente no conhecimento das espécies crípticas deste complexo.

Zuccarello *et al.* (2006) chamaram atenção para a necessidade de um melhor esforço amostral nas abordagens futuras, pois mesmo dentro de uma mesma localidade, as diferenças genéticas entre os indivíduos podem ser elevadas. Assim, um número maior de indivíduos amostrados pode fornecer informações importantes sobre a diversidade local e global. Os autores observaram mais dois haplótipos entre indivíduos do complexo *B. radicans*/*B. moritziana* que não foram detectados no trabalho anterior (ZUCCARELLO; WEST, 2003), justificando que este fato se deve ao esforço amostral maior ou porque a frequência destes haplótipos mudou no intervalo entre uma coleta e outra.

O uso de marcadores moleculares vem sendo cada vez mais frequente visando a solução dos problemas taxonômicos nos táxons infragenéricos de *Bostrychia*. Zuccarello e West (2006), objetivando uma análise taxonômica da subfamília Bostrychioideae sob uma perspectiva molecular, avaliaram a filogenia de dois marcadores moleculares (*rbcL* e 26S rRNA) no intuito de confirmar a dissociação dos dois gêneros existentes (*Stictosiphonia* e *Bostrychia*) baseada no número de camadas de células pericentrais por célula axial afirmado por King e Puttock (1989). A filogenia destes marcadores, aliada a observações morfológicas, revelou-se bastante elucidativa e os autores obtiveram resultados surpreendentes, comentados a seguir:

a) *Stictosiphonia* e *Bostrychia* não são dois gêneros distintos. Tanto os agrupamentos filogenéticos do marcador plastidial (*rbcL*) quanto os do marcador nuclear (26S rRNA) não suportam a separação destes dois gêneros baseados na principal característica morfológica (número de camadas pericentrais para cada célula axial) uma vez que espécies de *Bostrychia* (2 camadas de células pericentrais por célula axial) apresentaram agrupamentos bastante divergentes com espécies de *Stictosiphonia*. Aliada a outras informações relevantes, os autores sugerem que todas as espécies consideradas *Stictosiphonia* por King e Puttock (1989) retornem ao gênero *Bostrychia*.

b) Suporte molecular para *Ramifulcrateae* e *Flagelifulcrateae* (POST, 1936). A filogenia dos marcadores revelou que espécies que desenvolvem

cladohapteron formam clados entre si e apresentam-se distantes das espécies que desenvolvem peripherohapteron. Contudo, a elevação destes grupos para o nível de gênero não seria útil para a taxonomia da subfamília, pois poderia gerar problema taxonômico.

c) *Bostrychia* contém espécies polifiléticas. A observação de várias linhagens diferentes em espécies consideradas monofiléticas (*B. calliptera*, *B. simpliciuscula*, *B. tenuissima*) sugere caminhos evolutivos diferentes seguidos por vários representantes do gênero.

d) Sugestão de mudanças nomenclaturais. Algumas espécies consideradas como pertencentes a complexos, apresentam dificuldade taxonômica quando comparados os seus dados moleculares. Os autores sugerem que *B. tenella* subsp. *flagellifera*, pertencente ao “Complexo das Tenellas” deva ser novamente considerada como uma espécie distinta (*B. flagellifera*, Post). Além disso, ramos monossifônicos mais uma vez não são eficientes para a delimitação de espécies quando comparados com os dados moleculares. Desta forma, *B. tenuissima* deve ser considerada como sinônimo de *B. simpliciuscula*

e) Problemas taxonômicos persistentes em alguns complexos. Vários complexos de espécies no gênero *Bostrychia* ainda carecem de atenção uma vez que a descoberta de outras linhagens pode demonstrar a existência de diferentes casos de espécies crípticas dificultando ainda mais a sua taxonomia.

Observando a filogenia do marcador plastidial *rbcL* e do marcador nuclear (26S rRNA) aliada a observações morfológicas, West *et al.* 2006 descreveram uma nova espécie de *Bostrychia* denominada *Bostrychia radicata* (Itono) J.A.West, G.C.Zuccarello & M. H. Hommersand, inicialmente confundida com *Rhodolacne radicata* Itono. Contudo dados moleculares mostraram que se tratava da mesma espécie e atualmente *R. radicata* é considerada como sinônimo de *B. radicata*. Contudo, os autores sugerem que a relação entre *Bostrychia* e *Rhodolacne* Wynne deve ser melhor estudada para que se confirme ou não a existência de dois gêneros distintos.

No intuito de comprovar a importância do esforço amostral não só em abordagens que objetivem a avaliação de padrões de distribuição em larga escala, mas também a distribuição local de populações de macroalgas, Zuccarello *et al.* (2011) realizaram estudos moleculares e de hibridização com amostras do complexo *B.*

radicans/ *B. moritziana* coletadas no sul da América Central. Utilizando o marcador molecular “RUBISCO spacer”, os pesquisadores observaram a ocorrência de oito haplótipos dentro do referido complexo distribuindo-se ao longo dos pontos de coleta com expressivo grau de diferenciação entre populações do norte e do sul. Os diversos níveis de compatibilidade demonstrados pelos haplótipos nos experimentos de hibridização demonstraram que o processo de compatibilidade reprodutiva evolue mais rapidamente do que a diferenciação gradativa sofrida pelo marcador “RUBISCO spacer” dentro do complexo. Os pesquisadores concluíram que quanto maior o esforço amostral, melhor será o entendimento da diversidade dentro de complexos de macroalgas, pois seus resultados reafirmam que em uma mesma localidade, ou em uma mesma população, as amostras podem ser geneticamente muito diferentes.

4.2. Brasil

No Brasil, os aspectos taxonômicos dos representantes de *Bostrychia* foram inicialmente discutidos no trabalho pioneiro de Joly (1954), quando descreveu as espécies ocorrentes na região sul e sudeste do país.

Oliveira-Filho (1969), abordando as Ceramiales do Espírito Santo, apresentou uma importante análise sobre as espécies dos manguezais representadas principalmente pelo gênero *Bostrychia*. Cordeiro-Marino (1978) estudou as rodofíceas marinhas bentônicas do Estado de Santa Catarina, comentando que os gêneros *Bostrychia*, *Polysiphonia* Greville e *Caloglossa* J. Agardh são característicos destas áreas de manguezal.

Ugadim (1974), ao estudar as algas marinhas bentônicas do litoral sul do Estado de São Paulo e do litoral do Estado do Paraná, forneceu informações taxonômicas importantes sobre espécies como *B. scorpioides* e *B. radicans*. Continuando a abordagem sobre as Ceramiales da costa do Paraná e Sul de São Paulo, Ugadim (1976) descreveu plantas tetraspóricas de *B. binderi* e *B. tenella* e comentou sobre a distribuição confusa destes táxons nas áreas estudadas devido a grande semelhança entre as duas espécies.

A partir da década de 80, os estudos ficológicos se voltaram para a ecologia do “Bostrychietum”, quando os pesquisadores passaram a observar parâmetros como a distribuição espacial, temporal, variação da biomassa e da cobertura das macroalgas

associadas a pneumatóforos de árvores dos gêneros *Avicennia* L. e *Laguncularia* Gaertn.

Oliveira (1984) fez uma importante abordagem sobre a distribuição do gênero *Bostrychia* no “Bostrychietum” ocorrente em áreas de manguezais no Brasil baseado principalmente na literatura vigente. O autor enumerou as principais espécies ocorrentes na América do Sul. Para o Brasil, a ocorrência de 10 espécies foi citada sendo que algumas delas já foram colocadas em sinonímia, caso de *B. rivularis* (sinônimo de *B. radicans*) e *B. binderi* (sinônimo de *B. tenella*). Analisando fatores como a distribuição vertical, horizontal e a contribuição para a produtividade do ecossistema manguezal, o autor conclui que as espécies de *Bostrychia* estão perfeitamente adaptadas ao ambiente do manguezal. Aspectos como seu padrão de cor e sua tolerância à variação da salinidade contribuem para que espécies como *B. scorpioides* e *B. radicans* apresentem valores de biomassa e cobertura elevados quando comparados com outras espécies de outros gêneros componentes desta associação.

Miranda e Pereira (1989) observaram a composição das macroalgas no manguezal do rio Ceará e correlacionaram sua distribuição em função de condições hidrológicas. Os autores registraram a ocorrência de cinco espécies de *Bostrychia* (*B. calliptera*, *B. radicans* f. *moniliforme*, *B. radicans* f. *radicans*, *B. scorpioides* f. *montagnei* e *B. tenella*) além de observar que três delas (*B. radicans* f. *radicans*, *B. scorpioides* f. *montagnei* e *B. tenella*) apresentaram elevados valores de frequência de ocorrência, sendo consideradas muito frequentes na referida área de manguezal. Os autores observaram ainda que a salinidade variou consideravelmente durante o tempo de estudo e se constituiu em fator determinante da distribuição das macroalgas. *B. scorpioides* f. *montagnei* apresentou uma elevada tolerância à variação da salinidade, reafirmando a adaptação eficiente das espécies do gênero a este fator.

Fortes (1992) em seu estudo sobre aspectos taxonômicos e ecológicos das rodofíceas no manguezal da Ilha de Santos, Sergipe, observou a ocorrência de sete espécies de *Bostrychia*, provendo descrições, ilustrações e informações importantes sobre as espécies. Nesta abordagem a autora registrou a elevada frequência de ocorrência de *B. radicans* f. *radicans*, *B. binderi*, *B. calliptera* e *B. montagnei* em todas as estações de coleta, durante o período do estudo. O Manguezal apresentou uma comunidade homogênea de macroalgas e as espécies do referido gênero não demonstraram padrão aparente de distribuição sazonal, apesar da marcada variação de fatores como a temperatura e a salinidade ao longo do tempo de estudo.

As primeiras notas taxonômicas sobre as macroalgas ocorrentes nos manguezais da região norte de difícil acesso no Brasil foram feitas por Paula *et al.*, (1989). Os autores analisaram a ocorrência e distribuição das macroalgas nos manguezais da Ilha de Maracá, AP registrando, pela primeira vez, a ocorrência de *B. pilulifera* para a costa brasileira. Esta espécie, segundo os autores, mostrou-se muito distinta de outras espécies de *Bostrychia* por ser mais robusta, além de ter ocorrido tanto em regiões sombreadas quanto com alta incidência de luz. A região foi considerada de baixa diversidade e, entre as espécies do gênero, além de *B. pilulifera*, apenas *B. radicans* registrou ocorrência. Apesar de a distribuição das macroalgas não apresentarem um padrão horizontal definido, os autores sugerem que fatores como as variações da salinidade e da transparência da água podem ser determinantes na ocorrência e variação das macroalgas.

King *et al.* (1991) descreveram em detalhes a taxonomia de espécimens de *Bostrychia pilulifera* coletadas em Manguezais da região norte, mais precisamente na costa do Pará. Aspectos taxonômicos como o desenvolvimento de cladohapteron e de camadas de corticação foram discutidos para entender a relação próxima com outras espécies como *B. radicans* e *B. moritziana*. Além disso, para os autores, plantas de *B. pilulifera*, quando crescem em ambientes de alta intensidade de luz, tendem a ser pequenas e prostadas quando comparadas com plantas que crescem em regiões sombreadas, maiores e eretas.

Várias abordagens, analisando aspectos ecológicos das macroalgas de manguezal especialmente de espécies de *Bostrychia* têm-se destacado sempre como os principais componentes das comunidades, apresentando taxas fotossintéticas, biomassa e cobertura expressivas (CUNHA; COSTA, 2002; CUNHA; DUARTE, 2002).

Eston *et al.* (1992) analisaram padrões de colonização de macroalgas em substrato artificial em manguezais do sudeste do Brasil. Observaram que *B. radicans* apresentou elevada biomassa tanto em substrato artificial (canos plásticos e de madeira) quanto natural (pneumatóforos) enquanto que Yokoya *et al.* (1999), analisando a variação espaço-temporal da comunidade de macroalgas em manguezais da Ilha do Cardoso, SP, observaram que *B. radicans*. Caracterizava-se como espécie mais abundante do gênero na área estudada, além de não apresentar padrão de distribuição vertical definido, uma vez que ocorreu ao longo de todo o intervalo de altura de substrato registrado.

Cutrim (1998), estudando a distribuição espaço-temporal das macroalgas aderidas em troncos e pneumatóforos de *Avicennia germinans* (L.) Stearn em duas áreas da Ilha de São Luís do Maranhão, observou que a variação da biomassa estava significativamente relacionada com a disponibilidade de substrato para a fixação das macroalgas, representada pelas alturas e densidade dos pneumatóforos. Ressalta-se ainda o trabalho de Pereira (2000), que analisou a composição e variação sazonal das macroalgas do “Bostrychietum” de Vila Velha, Itamaracá, PE,

Fontes *et al.* (2007), analisando o “Bostrychietum” de duas áreas de manguezal do Estado de Pernambuco, observaram cinco espécies de *Bostrychia* (*B. calliptera*, *B. montagnei*, *B. moritziana*, *B. radicans* e *B. tenella*) e concluíram que esta associação se caracterizava em uma ferramenta de grande utilidade para o monitoramento ambiental de áreas de manguezal, uma vez que a análise de parâmetros próprios como a variação da composição e da biomassa das macroalgas pode estimar os impactos sofridos por este ecossistema.

A aplicação de técnicas moleculares vem subsidiando o desenvolvimento de importantes trabalhos sobre as relações filogenéticas e fitogeográficas entre as populações de algas marinhas bentônicas (OLIVEIRA, 2001). Entretanto, nos manguezais do litoral brasileiro há uma carência de pesquisas com o gênero *Bostrychia* tendo a biologia molecular como importante ferramenta auxiliar à taxonomia do referido gênero. Desta forma, o presente trabalho torna-se relevante e de suma importância, pois espera-se que os resultados obtidos tragam resoluções para os problemas taxonômicos do gênero em questão.

5. Referências Bibliográficas

BURKHOLDER, P .R.; ALMODOVAR, L. R. Studies on mangrove algae communities in Puerto Rico. **Florida Scientist**, Orlando, v. 36, n. 1, p. 66-74, 1974.

COLLADO-VIDES, L.; WEST, J. A new record of *Bostrychia calliptera* (Mont.) Montagne- Rhodomelaceae, Rhodophyta, for the central gulf. **Ciencias Marinas**, vol. 22, n.1, p.47-55, 1996.

CORDEIRO-MARINO, M. Rodófitas marinhas bentônicas do Estado de Santa Catarina. **Rickia**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 1-243, 1978.

CUNHA, S.R.; COSTA, C.S.B. Gradientes de salinidade e frequência de alagamento como determinantes da distribuição e biomassa de macroalgas associadas a troncos de manguezais na Baía de Babitonga, SC. **Notas Técnicas Facimar**, v. 6, p. 93-102, 2002.

CUNHA, S. R.; DUARTE N. R. Taxas fotossintéticas e respiratórias de macroalgas do gênero *Bostrychia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Notas Técnicas Facimar**, v. 6, p. 103-110, 2002.

CUTRIM, M.V. J. **Distribuição espaço-temporal das macroalgas aderidas em troncos e pneumatóforos de *Avicennia germinans* (L.) Stearn em duas áreas da Ilha de São Luís – Maranhão**. 1998. 155 f. Tese (Doutorado em Botânica)-Universidade de São Paulo, São Paulo.

DAVEY, A.; WOELKERLING, W. M. J. Studies on Australian mangrove algae. III. Victorian communities: structure and recolonization in Western Port Bay. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 85, p. 177-190, 1985.

DE TONI, G.B. **Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. 1 (Sylloge Floridearum)**, Padua, v. 2, p. 287-776, 1900.

- DUARTE, M. E. R. *et al.* The structure of a galactan sulfate from the red seaweed *Bostrychia montagnei*. **Carbohydrate Research**, n. 337, p. 1137-1144, 2002.
- ESTON, V.R. *et al.* Macroalgal colonization patterns on artificial substrates inside southeastern Brazilian mangroves. **Aquatic Botany**, v. 42, p. 315-325, 1992.
- FALKENBERG, P. Die Rhodomelaceen des golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-abschnitte. **Fauna und Flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-abschnitte**, Berlin: R. Friedlander and Sohn, v. 26, p. 1-754, 1901.
- FONTES, K. A. A.; PEREIRA, S. M. B. & ZICKEL, C. S. Macroalgas do “Bostrychietum” aderido em pneumatóforos de duas áreas de manguezal do Estado de Pernambuco. **Iheringia – Série Botânica**, v. 62, p. 31-38, 2007.
- FORTES, A. C. M.. **Estudo taxonomico e aspectos ecológicos das Rhodophyta no manguezal da Ilha de Santos (Complexo Estuarino Piauí-Fundo Real, SE)**. 1992. 194 f. Dissertação (Mestrado em Botânica)-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- FUJII, M. T.; YOKOYA, N. S.; CORDEIRO-MARINO, M. *Stictosiphonia kelanensis* (Grunow ex. Post) King & Puttock (Rhodomelaceae, Rhodophyta) a new record from atlantic mangroves. **Hoehnea**, v. 2, n. 17, p. 93-97, 1992.
- GUIRY, M. D. Modern approaches to the analysis of algal morphology and systematics species concepts in marine red algae. **Prog. Phycol. Res**, v. 8, p. 251-78, 1992.
- HERZ, R. **Manguezais do Brasil**. São Paulo: Instituto Oceanográfico, 1991. 54 p.
- HOMMERSAND, M. H. The morphology and classification of some Ceramiaceae and Rhodomelaceae. **University of California Publications in Botany**, v. 35, p. 165-366, 1963.
- HORTA, P. A. *et al.* Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. **Hoehnea**, v. 28, p. 243-265, 2001.

JOLY, A. B. The genus *Bostrychia* Montagne in southern Brazil. Taxonomic and ecological data. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, ser. Bot, São Paulo, v. 11, p.55-74, 1954.

KARSTEN; U.; WEST, J.; ZUCARELLO, G. C. Polyol content of *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from field and culture. **Botanica Marina**, v. 35, p.11-19, 1992.

KARSTEN, U.; WEST, J. A.; GANESAN, E. K. Comparative physiological ecology of *Bostrychia moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater and marine habitats. **Phycologia**, v. 32, p. 401–9, 1993.

KARSTEN, U. *et al.* Physiological ecotypes in the marine alga *Bostrychia radicans* (Ceramiales, Rhodophyta) from the east coast of the USA. **Journal of Phycology**, v. 30, p. 174–82, 1994.

KYLIN, H. **Die Guttungen der Rhodophycenn.** c.w.K. Gleerup Fôr!ag, Lund. 1956.

KING. R. J.; PUTTOCK. C. F.; VICKERY. R. S. A taxonomic study on the *Bostrychia tenella* complex (Rhodomelaceae. Rhodophyta). **Phycologia**, v. 27, p. 10-19, 1988.

KING, R. J.; PUTTOCK, C.; PAULA, E. J. The morphology of *Bostrychia pilulifera* .Montagne (Rhodomelaceae, Rhodophyta) **Japanese Journal of Phycology**, v. 39, p. 31-36, 1991.

KING; R. J.; PUTTOCK, C. F. Morphology and taxonomy of *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Australian. Systematic. Botany**, v. 21, p.1-73, 1989.

KNOWLTON, N. Sibling species in the sea. **Australian Review of Ecology and Systematic**, v. 24, p. 189-216, 1993.

LAURSEN, W. J.; KING, R. J. The distribution and abundance of macroalgae in Woollooware Bay, New South Wales, Australia. **Botanica Marina**, v. 43, p 377-384, 2000.

MANN, F. D.; STEINKE, T. D. Photosynthetic and respiratory responses of the mangrove-associated red algae, *Bostrychia radicans* and *Caloglossa leprieurii*. South. Africa. **Journal of Botany**, v. 54, p. 203-207, 1988.

MELVILLE, F.; PULKOWNIK, Seasonal and spatial variation in the distribution of mangrove macroalgae in the Clyde river, Australia. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 71, p. 683-690, 2007.

MIRANDA, P.T.C; PEREIRA, S.M.B. Macroalgas bentônicas no manguezal do rio Ceará (Ceará-Brazil). 11- Distribuição em função das condições hidrológicas. **Arquivos de Ciência do Mar**, v. 28, p. 39-52, 1989.

OLIVEIRA FILHO, E. C. Algas marinhas do sul do Estado de Espírito Santo (Brasil). I – Ceramiales. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo** (ser. Bot.), v. 26, p. 1-277, 1969

OLIVEIRA, E. C. Brazilian mangal vegetation with special emphasis on the seaweeds. In: POR, F. D; DOR, I. **Hyrobiology of the mangal**, (ed) Dr. W. Junk Publishers, The Hague, v. 2, p. 55-65, 1984.

OLIVEIRA, M. C. Estúdios de la macro y microbiodiversidad de las algas. Secuenciamiento del DNA ribosomal (rDNA). In: ALVEAR, K.; ANTEZANA, T. **Sustentabilidade da biodiversidad**, (eds) Concepción, Univ. Concepción, p. 85 –96, 2001.

PARSONS, M. J. Morphology and taxonomy of the Dasyaceae and the Lophothalieae (Rhodomelaceae) of the Rhodophyta. **Australian Journal of Botany**, v. 23, p. 549-713, 1975.

PAULA; E. J.; UGADIM, Y.; KANGAWA, A. I. Macroalgas de manguezais da Ilha de Maracá – Estado do Amapá, Brasil. **Insula**, Florianópolis, n.19, p. 95-114, 1989.

PEDROCHE, F.F. *et al.* Marine red algae of the mangroves in Southern Pacific México and Pacific Guatemala. **Botanica Marina**, v. 38, p. 111-119, 1995.

PEREIRA, S.M.B. As algas bentônicas. In: Barros, H. M; Eskinaze-Leça; Macedo, S. J.; Lima, T. **Gerenciamento Participativo de Estuários e Manguezais**. (ed.), Recife: Ed. Universitária da Universidade Federal de Pernambuco, c. 5, p. 49-65, 2000.

PHILLIPS, A. *et al.* Vertical zonation of epiphytic algae associated with *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. pneumatophore at Beachwood mangroves Nature Reserve, Durban. South Africa. **Botanica Marina**, v. 39, p. 167-175, 1996.

PHILLIPS, A. *et al.* Horizontal zonation of epiphytic algae associated with *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. pneumatophore at Beachwood mangroves Nature Reserve, Durban. South Africa. **Botanica Marina**, v. 37, p. 567-576, 1994.

POST, E. Systematische und pflanzengeographische Notizen zur *Bostrychia-Caloglossa* Assoziation. **Revisit Algologik**, v. 9, p. 1-84, 1936.

POST, E. Weitere daten zur webreitung des Bostrychietum III. **Archiv für Protistenkunde**, v. 93, p. 6-37, 1939.

RUENESS, J. Speciation in *Polysiphonia* (Rhodophyceae, Ceramiales) in view of hybridization experiments: *P. hemisphaerica* and *P. boldii*. **Phycologia**, v. 12, p. 107-109, 1973.

TANAKA, J.; CHIHARA, M. Species composition and vertical distribution of macroalgae in brackish waters of Japanese mangrove forests. **Bulletin National of Science Mu**, v. 13, n. 4, p. 140-150, 1987.

TAYLOR, W. R. **Marine algae of the Eastern Tropical and Subtropical coasts of the Americas**. Ann. Arbor: University of Michigan Press, 870 p, 1960.

UGADIM, Y. Ceramiales (Rhodophyta) do litoral sul do Estado de São Paulo e do litoral do Estado do Paraná (Brasil) I. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, n. 4, p. 133-172, 1976.

UGADIM, Y. Algas marinhas bentônicas do litoral sul do estado de São Paulo e do litoral do estado do Paraná III: Divisão Rhodophyta.I: Goniotricales, Bangiales, Nemalionales e Gelidiales. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 230, p. 93-137, 1974.

WALSH, G.E. Mangroves: a review. In: REINHOLD, R.; QUEEN, W. **Ecology of Halophytes** (eds), New York: Academic Press, p. 51-74, 1974.

WEST, J. *et al.* Observation on *Bostrychia radicata* *comb. nov.* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) **Phycological Research**, v. 54, p. 1–14, 2006.

WEST, J. A.; ZUCCARELLO, G. C. Biogeography of sexual and asexual populations in *Bostrychia moritziana* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Phycological Research**, v. 47, p. 115–23, 1999.

WEST, J. A. *et al.* Marine red algae of the mangroves in Pacific Mexico and their polyol content. **Botanica Marina**, v. 35, p. 567-572, 1992.

YARISH, C.; EDWARDS, P. A field and cultural investigation of the horizontal and seasonal distribution of estuarine red algae of New Jersey. **Phycología**, v. 21, n. 2, p. 112-124, 1982.

YOKOYA, N. S. *et al.* Temporal and spatial variations in the structure of macroalgal communities associated with mangrove trees of Ilha do Cardoso, São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 195-204, 1999.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A. Hybridization studies in *Bostrychia*. 1. *B. radicans* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Pacific and Atlantic North America. **Phycological Research**, v. 43, p. 233–40, 1995.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A. Hybridization studies in *Bostrychia*. 2. Correlation of crossing data and plastid DNA sequence data within *B. radicans* and *B. moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 36, p. 293–304, 1997.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A. Phylogeography of the *Bostrychia calliptera*/*B. pinnata* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) and divergence rates based on nuclear, mitochondrial and plastid DNA markers. **Phycologia**, v. 41, p. 49–60, 2002.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A. Multiple cryptic species: molecular diversity and reproductive isolation in the *Bostrychia radicans*/*Bostrychia moritziana* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) with focus on North American isolates **Journal of Phycology**, v. 39, p. 948–959, 2003.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A. Molecular phylogeny of the subfamily bostrychioideae (ceramiales, rhodophyta): subsuming *stictosiphonia* and highlighting polyphyly in species of *bostrychia*. **Phycologia**, v. 45, n. 1, p. 24–36, 2006.

ZUCCARELLO, G. C.; WEST, J. A.; KING, R. J. Evolutionary divergence in the *Bostrychia moritziana*/*B. Radicans* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta): molecular and hybridization data. **Phycologia**, v. 38, p. 234–44, 1999.

ZUCCARELLO, G. C. *et al.* Genetic diversity of the mangrove-associated alga *Bostrychia radicans*/*Bostrychia moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta) from southern Central America. **Phycological Research**, v. 59, p. 98–104, 2011.

Artigo I : O gênero *Bostrychia* Montagne (Ceramiales – Rhodophyta) nos Manguezais Brasileiros: taxonomia e distribuição. – Manuscrito a ser enviado para a Revista Acta Botânica Brasilica.

O gênero *Bostrychia* Montagne (Ceramiales – Rhodophyta) nos manguezais brasileiros: taxonomia e distribuição

Khey Albert de Azevedo Fontes^{1,3} & Sonia Maria Barreto Pereira^{1,2}

1. Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco. PPGB/UFRPE.

2. Departamento de Botânica – UFRPE. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE.

3. Autor para correspondência: kheyalbert@yahoo.com.br

RESUMO (O gênero *Bostrychia* Montagne (Ceramiales – Rhodophyta) nos manguezais brasileiros: taxonomia e distribuição): O presente trabalho teve como objetivo apresentar a taxonomia e distribuição dos representantes do gênero *Bostrychia* Mont. nos manguezais do litoral brasileiro. O material utilizado foi coletado em diversas áreas de manguezal durante o período de 13/04 a 04/11/2009. Seguiu-se posterior identificação taxonômica através da análise da morfologia interna e externa utilizando bibliografias pertinentes, complementada por consultas de exsicatas aos herbários nacionais com coleções registradas de *Bostrychia*. Foram apresentados descrições, ilustrações, comentários ecológicos e distribuição fitogeográfica para o Brasil, além de chave de identificação em nível específico. Todo o material foi herborizado e incorporado ao Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho (PEUFR) da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Foram identificadas seis espécies de *Bostrychia* nos manguezais da costa brasileira: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. e *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. O gênero *Bostrychia* Mont. apresentou uma larga distribuição nas áreas de manguezal da costa brasileira.

Palavras-chaves: “Bostrychietum”, macroalga, Rhodomelaceae.

ABSTRACT (The genus *Bostrychia* Montagne from Brazilian mangrove areas: taxonomy and distribution): This work aimed to present a survey of the genus *Bostrychia* Mont. in the mangroves along the brazilian coast. The algal samples were collected in several areas of mangrove from april, 13 to november, 04 of 2009. Taxonomic identification was carried out by assessing internal and external algal morphology with the aid of supplementary herbarium consultations. Descriptions, illustrations, ecological comments and phytogeographic distribution for Brazil were provided as well as identification key to species level. The herborized material was incorporated into the Professor Vasconcelos Sobrinho Herbarium (PEUFR) of the Universidade Federal Rural de Pernambuco. Six species of *Bostrychia* from the mangroves of the brazilian coast were identified: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont.in Orb. and *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. The genus *Bostrychia* Mont. had a large distribution in mangrove areas along the brazilian coast.

Key words: “Bostrychietum”, macroalgae, Rhodomelaceae.

Introdução

O gênero *Bostrychia* Mont. pertence à família Rhodomelaceae (Rhodophyta) sendo constituído por indivíduos com larga distribuição em águas tropicais e águas temperadas frias ocorrendo frequentemente em manguezais, em formações de “salt marshes” e epilíticos em frestas e fendas abrigadas de recifes e costões rochosos (King & Puttock 1989). O gênero é composto de 17 espécies (King & Puttock 1989; Zuccarello & West 2006; West *et al.* 2006) que apresentam talos robustos ou delicados, vermelho vináceos a enegrecidos com crescimento indeterminado no eixo principal e fixação ao substrato por meio de hapteron. (King & Puttock 1989; Post 1936; 1939).

Os critérios taxonômicos que delimitam o gênero são praticamente os mesmos adotados por Falkenberg (1901) e seguidos por King & Puttock (1989). Características morfológicas (padrão de ramificação, tipo de hapteron e cor), anatômicas (número de camadas de células pericentrais por célula axial, número de células pericentrais por célula axial, presença ou ausência de corticação, estrutura e tamanho das células) e reprodutivas (forma e tamanho dos estiquídeos e cistocarpos) demonstram considerável utilidade na separação dos táxons infragenéricos.

Em *Bostrychia*, a estrutura de fixação é denominada de hapteron. O hapteron é formado por células rizoidais originadas de células pericentrais e corticais na parte ventral do talo. Dois tipos principais de hapteron são encontrados entre os representantes do gênero: cladohapteron, se origina a partir da proliferação de células pericentrais e axiais que terminalizam um ramo de primeira ordem de crescimento determinado (*B. moritziana*, *B. pilulifera* e *B. radicans*) ou de crescimento indeterminado (*B. kelanensis*), e peripherohapteron, quando a estrutura se origina de células pericentrais e corticais oriundas do eixo principal (*B. calliptera*, *B. montagnei* e *B. tenella*) (King & Puttock 1989). Post (1936), um dos grandes estudiosos de *Bostrychia*, ao enfatizar a estrutura do hapteron, dividiu as espécies do gênero em dois grandes grupos referidos por ela como duas secções: *Flagellifulcrateae* (espécies que apresentam cladohapteron) e *Ramifulcrateae* (espécies com peripherohapteron).

O referido gênero ainda apresenta vários problemas morfoanatômicos que dificultam a delimitação precisa de várias espécies. A elevada variação existente suscita dúvidas taxonômicas e justifica a observação de vários complexos específicos que ainda precisam ser melhor estudados. Muitos autores têm se valido do uso de ferramentas auxiliares na elucidação de problemas taxonômicos como estudos moleculares que tem-se mostrado de suma importância (Zuccarello *et al.* 1999; Zuccarello & West 2002; 2006).

Sete táxons infragenéricos apresentam registros de ocorrência nos manguezais brasileiros: *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont., *Bostrychia kelanensis* Grunow ex. E. Post; *Bostrychia montagnei* Harv., *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kutz.) J. Agardh, *Bostrychia pilulifera* Mont., *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. e *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. (Joly 1954; Taylor 1960;

Oliveira 1984; Paula *et al.* 1989; Fujii *et al.* 1992). No Brasil, os aspectos taxonômicos dos representantes de *Bostrychia* foram inicialmente discutidos no trabalho de Joly (1954), que descreveu as espécies ocorrentes na região sul e sudeste do país. Oliveira-Filho (1969), abordando as Ceramiales do Espírito Santo, apresentou uma importante análise sobre as espécies dos manguezais representadas principalmente pelo gênero *Bostrychia*. Cordeiro-Marino (1978) estudou as rodofíceas marinhas bentônicas do Estado de Santa Catarina, comentando que os gêneros *Bostrychia*, *Polysiphonia* Greville e *Caloglossa* J. Agardh são característicos destas áreas de manguezal.

O presente trabalho tem como objetivo apresentar a taxonomia e distribuição geográfica dos representantes do gênero *Bostrychia* nos manguezais do litoral brasileiro.

Material e métodos

No Brasil, os manguezais apresentam área aproximada de 10.136.720 km², estendendo-se desde o Cabo Orange ao Norte, até o Estado de Santa Catarina ao Sul (Herz 1991). Este ecossistema abriga uma flora de macroalgas relativamente pobre e estável devido principalmente ao aporte de água doce e sedimento (Horta *et al.* 2001). Com base nestas considerações, o material botânico utilizado foi coletado em seis áreas de manguezal do litoral brasileiro, previamente escolhidas por sua localização e representatividade na região considerada por Horta *et al.* (2001) como “Domínio de Manguezais” no período de 13/04 a 04/11/2009 e 01/06/2010 (Tabela 1), durante as marés baixas, com auxílio de espátula, fixado em solução de formol (4%), neutralizadas com bórax (1%) e devidamente acondicionadas em tubos de falcon (50 ml). Exsicatas de *Bostrychia* depositadas nos herbários visitados também foram analisadas quando possível e consideradas para a observação da distribuição do gênero. Estas análises complementares contribuíram para a determinação de alguns táxons, bem como, auxiliaram na compreensão da variabilidade morfológica e distribuição fitogeográfica das espécies no litoral brasileiro. Os herbários consultados, indexados no Index Herbariorum, foram os seguintes: Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho (PEUFR-Universidade Federal Rural de Pernambuco), Herbário Alexandre Leal Costa (ALVB-Universidade Federal da Bahia). Herbário Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB); Herbarium Bradeanum (HB), Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo (SP) e Herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (SPF).

A identificação foi baseada nos seguintes critérios taxonômicos: número de camadas de células pericentraes, corticação, padrão de ramificação, tipo de hapteron e estruturas reprodutivas. Foram utilizados microscópio estereoscópico e microscópio Zeiss óptico binoculares para a observação das estruturas. Para a análise da morfologia interna, foram montadas lâminas semi-permanentes em solução de glicerina (50%) e vedadas com esmalte incolor. Para a obtenção das diversas medidas anatômicas, foi utilizada uma ocular micrométrica Zeiss. Foram obtidas, quando possível, as médias de 20 medidas por

estrutura notável. Para o posicionamento dos táxons foi seguido Wynne (2011). As ilustrações dos táxons foram feitas com o auxílio do microscópio estereoscópio Zeiss acoplado a câmara fotográfica ou através de fotografias dos exemplares *in natura* e/ou herborizados. Todo o material foi herborizado conforme as técnicas usuais da ficologia marinha (Cordeiro Marino 1978). As exsicatas foram incorporadas ao Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho (PEUFR) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PEUFR 50926 a PEUFR 50951).

Resultados

Foram identificadas seis espécies de *Bostrychia* nos manguezais brasileiros estudados (Tabela 1; Fig 1). Os critérios utilizados para a identificação das espécies são apresentados na tabela 2. As espécies são identificadas pela seguinte chave:

Chave de identificação para as espécies de *Bostrychia* dos manguezais do litoral brasileiro.

- 1a. Fixação ao substrato por meio de peripherohapteron.....2
- 2a. Ápices completamente ou raramente curvados; ramos laterais de última ordem inteiramente ou parcialmente monossifônicos.....3
- 3a. Ápices raramente curvados; ramos laterais de primeira ordem geralmente menor que 2,6 mm; 1-3 ordens de ramificação; 1-3 ordens de corticação no eixo principal.....6. *Bostrychia tenella*
- 3b. Ápices constantemente curvados ventralmente; ramos laterais de primeira ordem geralmente maior que 2,6 mm; 2-4 ordens de ramificação; 3-4(-5) ordens de corticação no eixo principal.....2. *Bostrychia montagnei*
- 2b. Ápices nunca curvados; ramos laterais de última ordem completamente polissifônicos; ramos laterais originando-se a partir de cada célula axial do eixo principal; ramos laterais não ramificados.....1. *Bostrychia calliptera*
- 1b. Fixação ao substrato por meio de cladohapteron.....4
- 4a. Eixo principal corticado; ramos laterais originando-se a cada 5 células axiais do eixo principal.....4. *Bostrychia pilulifera*
- 4b. Eixo principal ecorticado; ramos laterais originando-se não como acima.....5
- 5a. Ramos laterais de última ordem inteiramente polissifônicos.....5. *Bostrychia radicans*
- 5b. Ramos laterais de última ordem monossifônicos simples ou ramificados dicotomicamente.....3. *Bostrychia moritziana*

Bostrychia calliptera (Mont.) Mont, *Bostrychia*. *Dictionnaire Universel d'Histoire Naturelle* [Orb.]2. 660-661. 1842b

Fig: 2A-E

Talo delicado com ápices não curvados, prostrado vermelho-escuro a vináceo, formando tapetes aveludados ou, raramente, ocorrendo isolados; $5,08 \pm 0,97$ cm de altura; fixo ao substrato por peripherohapteron, localizado geralmente nas bifurcações do eixo principal de crescimento indeterminado; $9,73 \pm 1,33$ cm de comprimento; ramificação geralmente alterno-dística, às vezes irregular na base; 1-3 ordens de ramificação no eixo principal; ramos laterais suberetos não ramificados com crescimento determinado se originando geralmente de cada célula axial; $2,53 \pm 0,6$ mm de comprimento, ramos inteiramente polissifônicos, crescimento por nítida célula apical. 1-2 ordens de corticação no eixo principal ou com córtex presente apenas na região do peripherohapteron; $402,55 \pm 26,90$ μ m de diâmetro; 6(-7) células pericentrais por célula axial; células axiais com $66,17 \pm 4,90$ μ m de comprimento. Presença de hifas internas com $28,23 \pm 5,87$ μ m de diâmetro. Estiquídios terminais em ramos de última ordem com $850,83 \pm 50,71$ μ m de comprimento; tetrasporângios tetraédricos com $53,08 \pm 8,55$ μ m de diâmetro.

Material examinado: **BRASIL. Pará:** Bragança, 13/IV/2009, Tetrasp., Khey Albert 50926 (PEUFR). **Maranhão:** São Luís, 22/IV/2009, veg., Khey Albert 50927 (PEUFR). **Pernambuco:** Itamaracá, 26/V/2009, veg., Khey Albert 50928 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50929 (PEUFR). **Espírito Santo:** Cana Santa Cruz, Vila Velha, 07/X/1988, veg., 54089 (SPF). **Rio de Janeiro:** Ilha Maçarico Paraty, 2003, veg., 398131 (RB). **São Paulo:** Peruíbe, 08/VII/1988, veg., 53968 (SPF). **São Paulo:** Cananéia, 28/VII/1953, veg., 5471 (SPF). **Paraná:** Guaratuba, 11/II/2004, veg., 391706 (SP). **Santa Catarina:** Florianópolis, 04/XI/2009, veg., Khey Albert 50930 (PEUFR).

Bostrychia calliptera é uma espécie muito semelhante a *Bostrychia pinnata* Tanaka & Chihara, diferenciando-se, apenas, pela presença de camadas corticais por todo o talo. Zuccarello & West (2002) propuseram *B. pinnata* como sinônimo de *B. calliptera* uma vez que os dados moleculares não demonstraram suporte para que as duas espécies fossem consideradas duas entidades taxonômicas independentes. Neste trabalho optou-se por considerar a posição taxonômica proposta pelos referidos autores uma vez que todos os indivíduos de *B. pinnata* analisados corresponderam morfológicamente aos indivíduos descritos por Tanaka & Chihara (1984). Além disso, todos os indivíduos de *B. pinnata* analisados nesta abordagem ocorreram sempre juntos a indivíduos de *B. calliptera*, podendo isto, ser apenas variação morfológica de um único táxon.

King & Puttock (1989) chamaram a atenção para o fato de que *B. calliptera* apresenta hifas internas (células finas e alongadas) relacionadas apenas com as células axiais do ramo principal. Esta característica foi observada em todos os indivíduos analisados.

B. calliptera apresenta uma distribuição cosmopolita nos manguezais da costa brasileira pois ocorre do Amapá até Santa Catarina. Mesmo quando não coletados, foram encontrados registros em herbários que confirmavam a sua ocorrência. Destaca-se a maior robustez de indivíduos coletados em manguezais da costa Norte-Nordeste do litoral brasileiro tanto em altura da planta quanto em comprimento do eixo principal.

Bostrychia montagnei Harv., *Nereis boreali-americana*; or, contributions towards a history of the marine algae of the Atlantic and Pacific coasts of North America. Part II. Rhodospermeae. *Smithsonian Contributions to Knowledge*, p. 258, 1853

Fig: 3A-C

Talo robusto, semi-ereto, púrpura a enegrecido formando tufo volumosos; $4,63 \pm 0,45$ cm de altura; fixo ao substrato por peripherohapteron com 5-7(-8) células axiais de comprimento; eixo principal de crescimento indeterminado; $6,23 \pm 0,53$ cm de comprimento; 2-4 ordens de ramificação alterno-dística; eixo principal e ramos laterais inteiramente polissifônicos, excetuando-se os ramos de última ordem, parcialmente monossifônicos; ápices dos ramos notadamente curvados ventralmente; ramos laterais de crescimento determinado se originando geralmente a cada (4-)5-6 células axiais do eixo principal; $3,29 \pm 1,03$ mm de comprimento; crescimento por nítida célula apical. Eixo principal com $639,00 \pm 91,51$ μ m de diâmetro; (5)7(8) células pericentraes por célula axial; células axiais com $152,19 \pm 19,96$ μ m de comprimento no eixo principal; 3-4(-5) ordens corticação no eixo principal. Estiquídios terminais em ramos de última ordem, $591,96 \pm 85,88$ μ m de comprimento; tetrasporângios tetraédricos, $40,73 \pm 5,66$ μ m de diâmetro.

Material examinado: **BRASIL. Maranhão:** Humberto de Campos, 26/V/1982, veg., M. M. Ferreira Correia. 177115 (SP). **Maranhão:** Icatu, 06/II/1982, veg., M. M. Ferreira Correia. 177162 (SP). **Pernambuco:** Itamaracá, 26/V/2009, veg., Khey Albert 50931 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50932 (PEUFR). **São Paulo:** Ilha do Cardoso, 16/VI/2003, veg., 356131 (SP). **Santa Catarina:** Florianópolis, 04/XI/2009, veg., Khey Albert 50933 (PEUFR).

Bostrychia montagnei é uma espécie muito semelhante à *B. scorpioides* (Hudson) Mont. in Orb. e *B. harveyi* Mont. e pode frequentemente ocorrer erros em sua identificação. *B. harveyi* é endêmica do

hemisfério norte americano enquanto que *B. scorpioides* é comum em “salt marshes” da costa europeia (King & Puttock 1989). Todos os indivíduos coletados e analisados neste trabalho apresentaram características de *B. montagnei*.

Ferreira-Correia (1983) registrou a ocorrência de *B. scorpioides* para a costa maranhense, depositando exsicatas no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo -SP (177115; 177137; 177162). Entretanto, ao se analisar o referido material, verificou-se que todos os espécimens apresentavam características de *B. montagnei* descritos por King & Puttock (1989) e Joly (1954) como presença de filamentos monossifônicos curtos na terminação de ramos laterais e acentuada curvatura ventral dos ápices. Sendo assim, considerou-se todos os indivíduos analisados como pertencentes a *B. montagnei*., caracterizando como incorreta a identificação proposta por Ferreira-Correia (1983).

Bostrychia moritziana (Sond. ex Kütz.) J. Agardh, *Species genera et ordines algarum*, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen secundum: algas florideas complectens. Part 2, fasc. 3, p. 787-1138, 1863

Fig: 4D

Talo delicado, prostrado, formando tufo vermelho, púrpura a enegrecidos; $1,23 \pm 0,41$ cm de altura; Fixo ao substrato por cladohapteron com 5-6 células axiais de comprimento; ramificação alternodística; 1-3 ordens; eixo principal de crescimento indeterminado; $1,35 \pm 0,30$ cm de comprimento; ramos laterais de crescimento determinado se originando geralmente a cada 4-5 células axiais do eixo principal; $2,57 \pm 0,60$ mm de comprimento; eixo principal polissifônico e ramos laterais de última ordem inteiramente monossifônicos simples ou com ramificação dicotômica, crescimento por nítida célula apical. Eixo principal com $204,77 \pm 19,23$ µm de diâmetro; 7-9 células pericentraes por célula axial; células axiais com $102,19 \pm 11,93$ µm de comprimento no eixo principal. Talo inteiramente ecorticado.

Material examinado: **BRASIL. Maranhão:** São Luís, 26/IX/1980, veg., M. M. Ferreira Correia 177163 (SP). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50950 (PEUFR). **São Paulo:** Ilha do Cardoso, 21/VI/1977, veg., 318241 (SPF). **Santa Catarina:** Florianópolis, 04/XI/2009, veg., Khey Albert 50934 (PEUFR). **Santa Catarina:** Florianópolis, 04/XI/2009, veg., Khey Albert 50935 (PEUFR).

B. moritziana se caracteriza por apresentar ramos monossifônicos de última ordem simples ou ramificados dicotomicamente (King & Puttock 1989). Muito embora esta característica tenha variado bastante, nos espécimens analisados foi possível observar ramos monossifônicos simples e ramificados ao mesmo tempo no mesmo indivíduo. Esta característica foi mais freqüente em espécimens coletados nos

estados da Bahia e Santa Catarina. Por outro lado, nos demais espécimens analisados, ramos monossifônicos simples foram mais frequentemente observados.

O material analisado corresponde com os descritos por King & Puttock (1989), Post (1936; 1939) e Joly (1954). Porém, uma série de convergência nos valores registrados das medidas de estruturas, bem como em características como a presença de ramos monossifônicos, suscitaram a dúvida de que alguns espécimens poderiam se tratar de representantes de *Bostrychia simpliciuscula* Harv. ex J. Agardh, espécie muito semelhante a *B. moritziana*, mas que não apresentava registros para a costa brasileira. Esta possibilidade de interpretação equivocada foi prontamente descartada, pois foi observado que todos os indivíduos analisados apresentavam cladohapteron, estrutura típica de *B. moritziana*. *B. simpliciuscula* realiza a sua fixação exclusivamente por meio de peripheroapteron.

Bostrychia pilulifera Mont, Troisième centurie de plantes cellulaires exotiques nouvelles.

Décades V, VI, VII et VIII. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Seconde Série* 18, p. 252, 1842b

Fig: 4A-B

Talo robusto prostrado com ramos suberetos vermelho a vermelho-escuro; $5,59 \pm 1,53$ cm de altura; fixo ao substrato por cladohapteron; talo corticado; 2-3 ordens de corticação; ramificação alterno-dística com eixo principal de crescimento indeterminado; $3,60 \pm 1,05$ cm de comprimento; ramos laterais de crescimento determinado se originando a cada 5 células axiais do eixo principal; $3,38 \pm 0,29$ mm de comprimento; 1-3 ordens de ramificação; ramos completamente polissifônicos. Eixo principal com $507,50 \pm 59,56$ μm de diâmetro; 6-8 células pericentrais por célula axial; Estiquídios terminais em ramos de última ordem, $828,57 \pm 81,33$ μm de comprimento.

Material examinado: **BRASIL. Amapá:** Ilha de Maracá, 1988, tetrasp., Paula, 54065(SPF). **Pará:** Mosqueiro, 1988, tetrasp., Ugadim, 51927(SPF). **Pará:** Mosqueiro, 1988, veg., Ugadim, 52026 (SPF). **Pará:** Mosqueiro, 1988, veg., Ugadim, 52046 (SPF).

Segundo King *et al.* (1991), *B. pilulifera* é endêmica da costa norte da América do Sul. Apesar de os autores comentarem que esta espécie apresenta larga distribuição nesta região, a mesma não foi encontrada em nenhuma estação visitada.

O material analisado consistia em exsicatas depositadas no Herário SPB da Universidade de São Paulo. Devido ao seu estado, algumas características dos indivíduos como o número de células pericentrais por célula axial e o número de camadas corticais foram observadas com dificuldade.

King & Puttock (1989) chamam a atenção para o fato de que *B. pilulifera* apresenta características muito semelhantes com *B. radicans* diferenciando-se desta última por ser maior e mais robusta em tamanho, uma vez que apresenta córtex no eixo principal.

Bostrychia radicans (Mont.) Mont. in Orb., *Dictionnaire Universel d'Histoire Naturelle [Orb.]* 2, p. 660-661, 1842

Figs: 5A-D

Talo robusto prostrado, vermelho, púrpura a enegrecido formando tufos geralmente associados a outras espécies do gênero; $1,55 \pm 0,50$ cm de altura; fixo ao substrato por cladohapteron com 5-7(-8) células axiais de comprimento; ramificação alterno-dística apresentando de 1-2(-3) ordens; eixo principal de crescimento indeterminado; $1,66 \pm 0,26$ cm de comprimento; ramos laterais de crescimento determinado se originando geralmente a cada (4-)5-6 células axiais do eixo principal; $3,35 \pm 0,31$ mm de comprimento; talo inteiramente polissifônico; crescimento por nítida célula apical. Eixo principal com $234,50 \pm 21,90$ μm de diâmetro; (7-) 8-10 células pericentraes por célula axial; células axiais com $152,19 \pm 19,96$ μm de comprimento no eixo principal; talo inteiramente ecorticado. Cistocarpos ovoides e intercalares com $339,20 \pm 52,35$ μm de diâmetro; estiquídios terminais em ramos de última ordem, $835,26 \pm 99,91$ μm de comprimento; tetrasporângios tetraédricos, $61,38 \pm 6,47$ μm de diâmetro.

Material examinado: **BRASIL. Pará:** Bragança, 13/IV/2009, Tetrasp., Khey Albert 50936 (PEUFR). **Maranhão:** São Luís, 22/IV/2009, veg., Khey Albert 50948 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50937 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50938 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50939 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50940 (PEUFR). **Bahia:** Taperoá, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50941 (PEUFR). **Rio de Janeiro:** Cabo Frio, 1987, veg., 286095 (RB). **Rio de Janeiro:** Cabo Frio, 1987, veg., 286092 (RB). **São Paulo:** Ilha do Cardoso, 02/VI/1976, veg., 318246 (SP). **Santa Catarina:** Florianópolis, 04/XI/2009, tetrasp., Khey Albert 50942 (PEUFR). **Santa Catarina:** Celso Ramos, 18/II/1972, veg., 115459 (SP).

Os indivíduos analisados apresentaram características correspondentes às de King & Puttock (1989). Foi observada uma grande variação no tamanho do talo, contudo, estruturas como cladohapteron, ausência de camadas corticais, extensão da polissifonia e ausência de ramos monossifônicos de última ordem sempre foram observados nas amostras.

Indivíduos coletados em Galeão (BA) apresentaram uma variação significativa no número de células pericentraes por célula axial no eixo principal. O número observado foi de dez células pericentraes enquanto que várias descrições (King & Puttock 1989; Joly 1954) indicam um intervalo de variação entre 7 e 8 células pericentraes. Entretanto, King & Puttock (1989) consideram que esta característica apresenta um nível de variação que a caracteriza como critério pouco “confiável” na separação entre espécies. Com base neste critério, optou-se por identificar estas amostras como *B. radicans*.

Bostrychia tenella (J. V. Lamour.) J. Agardh, *Species genera et ordines algarum*, descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen secundum: algas florideas complectens. Part 2, fasc. 3, p. 787-1138, 1863

Fig: 6A-C

Talo robusto, prostrado, vermelho a vermelho-escuro, formando tapetes; $2,57 \pm 0,58$ cm de altura; fixo ao substrato por peripherohapteron com 5-7 células axiais de comprimento, localizado nas bifurcações do eixo principal; ramificação alterno-dística apresentando de 1-3 ordens; eixo principal de crescimento indeterminado, $5,05 \pm 0,6$ cm de comprimento; ápices raramente curvados; ramos laterais de crescimento determinado se originando geralmente a cada célula axial do eixo principal; $2,54 \pm 0,77$ mm de comprimento; ramos laterais de última ordem inteiramente ou parcialmente monossifônicos; crescimento por nítida célula apical. Eixo principal com $279,00 \pm 32,43$ μ m de diâmetro; 6(-7) células pericentraes por célula axial; células axiais com $210,75 \pm 7,30$ μ m de comprimento; 1-3 ordens de corticação no eixo principal. Cistocarpos geralmente globosos e intercalares; $586,00 \pm 100,35$ μ m de diâmetro; estiquídios terminais em ramos de última ordem; $735,00 \pm 93,37$ μ m de comprimento; tetrasporângios tetraédricos; $40,00 \pm 7,61$ μ m de diâmetro.

Material examinado: **BRASIL. Pernambuco:** Itamaracá, 26/V/2009, veg., Khey Albert 50944 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50945 (PEUFR). **Bahia:** Galeão, 21/VIII/2009, veg., Khey Albert 50949 (PEUFR). **Espírito Santo:** Cana Santa Cruz, Vila Velha, 07/X/1988, veg., 54089 (SPF). **Rio de Janeiro:** Ilha Maçarico Paraty, 2003, veg., 398131 (RB). **São Paulo:** Peruíbe, 08/VII/1988, veg., 53968 (SPF). **São Paulo:** Ilha do Cardoso, 01/VI/2010, veg., Natália Guimarães 50946 (PEUFR). **São Paulo:** Ilha do Cardoso, 01/VI/2010, veg., Natália Guimarães 50947 (PEUFR). **São Paulo:** Cananéia, 28/VII/1953, veg., 5471 (SPF). **Paraná:** Guaratuba, 11/II/2004, veg., 391706 (SP).

Bostrychia tenella sempre foi uma espécie que apresentou uma marcada variação morfológica (Post 1936). King *et al.* (1988) avaliando as principais características morfológicas, revisaram o táxon considerando apenas duas subespécies: *B. tenella* subsp. *tenella* e *B. tenella* subsp. *flagelifera* diferenciando-as, apenas, pelo número de células axiais entre cada ramo lateral no eixo principal.

Utilizando marcadores moleculares (rbcL e 26S) Zuccarello & West (2006) observaram que a diferença entre as duas subespécies de *B. tenella* também se confirmava quando analisados os dados moleculares. Desta forma, os autores propuseram que *B. tenella* subsp. *flagelifera* deveria ser ‘re-elevada’ à categoria de espécie, retornando a ser denominada como *B. flagelifera* Post.

Nos indivíduos analisados neste trabalho, foi notável a variação morfológica entre eles. Características como padrão de ramificação, extensão da polissifonia em ramos laterais, e número de camadas corticais em ramos laterais (King *et al.* 1988) mostraram-se tão assimétricos que tornou-se muito difícil a aceitação destes espécimens como pertencentes a apenas um táxon (*B. tenella*). Indivíduos coletados em Itamaracá, PE e Ilha do Cardoso, SP (Tabela 1) apresentaram ramos laterais de última ordem predominantemente polissifônicos, células corticais presentes no ramo lateral e um crescimento esparsos no talo, características morfológicas típicas de *B. binderi* (Post 1936; 1939). Indivíduos coletados em Galeão (BA) (Tabela 1) apresentaram ramos laterais de última ordem predominantemente monossifônicos, células corticais menos frequentemente presentes no ramo lateral e um crescimento denso no talo característicos de *B. tenella* (Post 1936).

Entretanto, apesar da grande variação observada nestas características, optou-se por considerar todos os indivíduos como pertencentes à espécie *B. tenella* em conformidade com King *et al.* (1988) que afirmam que as relações taxonômicas entre os táxons envolvidos caracterizaram-se como um gradiente de variação de apenas uma espécie como resposta a vários microhabitats.

Discussão

As características morfológicas que delimitam os táxons infragenéricos no referido gênero têm tido seu valor taxonômico bastante discutido (Post 1936; 1939; King *et al.* 1988; King & Puttock 1989; Zuccarello & West 2006), com algumas delas sendo consideradas mais úteis que outras para a separação das espécies. Os indivíduos analisados neste trabalho apresentaram variação significativa nestas características, contudo, a utilidade de características como tipo de hapteron e padrão de ramificação pode ser positivamente comprovada enquanto que características como o número de células pericentraes por célula axial e número de camadas corticais, apesar de agregarem valor taxonômico auxiliar, não foram determinantes.

O tipo de hapteron, característica bastante enfatizada por Post (1936), mostrou-se mais uma vez como um critério de alto valor taxonômico. Espécies que apresentavam sua fixação por peripherohapteron

(*B. calliptera*, *B. montagnei* e *B. tenella*) puderam ser claramente separadas de espécies cuja estrutura de fixação se diferenciava em cladohapteron (*B. moritziana*, *B. pilulifera* e *B. radicans*). Zuccarello & West (2006), ao utilizarem marcadores moleculares, também enfatizaram a importância da natureza do hapteron para a separação infragenérica de *Bostrychia* ao observar que espécies representantes de *Flagellifulcratae* agruparam-se separadas de espécies representantes de *Ramifulcratae*.

A presença de ramos monossifônicos de última ordem auxiliaram na separação de vários táxons infragenéricos analisados (*B. montagnei*, *B. moritziana*, *B. radicans* e *B. tenella*), contudo, esta característica têm sido extensivamente questionada por vários autores (Pedroche *et al.* 1995; Zuccarello & West 1997). O fato de várias espécies serem consideradas diferentes apenas pela presença ou ausência de uma característica pode não ser determinante, pois indivíduos de espécies diferentes podem apresentar a mesma característica quando submetidos a condições adversas, por exemplo. Zuccarello e West (1995; 1997; 2003) em uma série de abordagens sobre o complexo *B. radicans*/*B. moritziana*, observaram que a presença ou ausência de ramos monossifônicos de última ordem, apesar de morfologicamente viável, podem não representar significativamente um critério confiável para a delimitação taxonômica entre estas duas espécies, pois em seus estudos, os autores observaram que sob determinadas condições de cultivo, *B. radicans* também podia desenvolver a monossifonia em seus ramos de última ordem, além de registrar a hibridização positiva entre indivíduos das duas espécies.

A busca por critérios morfológicos eficientes na delimitação infragenérica dos representantes do gênero *Bostrychia* deve caminhar passo a passo com o uso de novas ferramentas que auxiliem na resolução dos problemas taxonômicos e na melhor elucidação das relações entre os indivíduos pertencentes aos variados complexos específicos encontrados e que apresentam elevado nível de variação.

De um modo geral, o gênero *Bostrychia* apresentou uma distribuição cosmopolita nas áreas de manguezal da costa brasileira. Esta característica é evidente por se tratar de um grupo de macroalgas eficientemente adaptado à variação das marés, além de apresentar um elevado grau de resistência a fatores como dessecação e irradiância (Oliveira 1984; Cunha & Costa 2002). Em todas as estações visitadas neste trabalho, contudo, nem todas as espécies conhecidas foram igualmente coletadas, apesar de apresentarem registros de herbários confirmando a sua ocorrência para a referida estação. *B. calliptera*, por exemplo, mostrou-se muito frequente em praticamente todas as áreas de manguezal visitadas. Algumas espécies foram mais comumente encontradas em áreas mais ao Norte, enquanto outras, mais ao Sul. Outras espécies como *B. pilulifera* sequer foram encontradas nas áreas estudadas.

O fato de todas as espécies não serem coletadas em todas as áreas não quer dizer que estas mesmas espécies não ocorram nas determinadas estações. Várias abordagens realizadas não só em manguezais brasileiros (Eston 1992; Yokoya *et al.* 1999; Cutrim & Azevedo 2005; Fontes *et al.* 2007) mas também em outras áreas de manguezais tropicais (Melville *et al.* 2007; Phillips *et al.* 1996; Tanaka &

Chihara 1987) observaram que vários representantes do referido gênero apresentam variação sazonal marcante, podendo se tornar abundante em uma estação do ano e extremamente rara em outra. Além disso, fatores como distribuição horizontal ao longo de um gradiente de salinidade pode determinar marcadamente a distribuição das espécies de *Bostrychia*. Este fato pôde ser observado em uma das estações de coleta visitadas quando Fernandes *et al* (2005) observaram que na península de Ajuruteua, Bragança (PA) espécies como *B. montagnei* distribuíam-se mais ao norte onde os valores de salinidade eram mais elevados.

Neste trabalho, faz-se ainda necessário analisar a distribuição de *Bostrychia kelanensis* Grunow *ex* E. Post registrada em Fujii *et al* (1992) nos manguezais brasileiros. Esta espécie era anteriormente classificada como *Stictosiphonia kelanensis* (Grunow *ex* E. Post) R. J. King & Puttock, contudo, Zuccarello & West (2006), analisando a subfamília Bostrychioidea à luz de dados moleculares, promoveu o retorno da espécie para o gênero *Bostrychia*. O trabalho de Fujii *et al.* (1992) caracteriza-se como único registro de ocorrência da referida espécie não só nos manguezais brasileiros, mas também em toda a área de manguezais ocorrente no Atlântico. Os espécimens encontrados crescendo sob pneumatóforos de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaert. e em associação com *B. radicans*, *B. calliptera* e *Caloglossa leprieurii* (Mont.) J. Agardh foram analisados e depositados como voucher no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo (188409-SP; 188410-SP).

Infelizmente, a espécie não foi coletada em nenhuma estação de coleta visitada neste estudo. Além disso, ao visitar o Herbário Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo (SP), o material analisado por Fujii *et al.* (1992) não foi encontrado e portanto, também não foi analisado. Seu paradeiro também não pode ser determinado pelos responsáveis da coleção. Informações não publicadas atentam para a elevada raridade da espécie que não foi coletada novamente nem mesmo no local de sua única ocorrência brasileira (Manguezal do Rio Sítio Grande, Ilha do Cardoso, SP). Apesar do ocorrido, optou-se por considerar válida a ocorrência do referido táxon nos manguezais brasileiros, uma vez que o material em questão apresentou características morfológicas típicas de *B. kelanensis* como o desenvolvimento de cladohapteron e a presença de três camadas de células pericentrais envolvendo cada célula axial no eixo principal de crescimento indeterminado. Descrição detalhada, ilustrações e informações ecológicas importantes podem ser melhor conferidas em Fujii *et al.* (1992).

Apesar das dificuldades encontradas, este trabalho constitui-se numa importante abordagem sobre a ocorrência do gênero *Bostrychia* no Brasil. A importância do tipo de hapteron, característica taxonômica considerada anteriormente por diversos autores como fundamental para a separação dos táxons infragenéricos (Post 1936; King & Puttock 1989; Zuccarello & West 2006), reflete-se também nos representantes brasileiros, reafirmando-se num critério bastante confiável a ser utilizado pelos pesquisadores deste grupo. Além disso, a presença de hifas internas em *B. calliptera* pode ser

reconsiderado como um critério eficiente na delimitação taxonômica da dos representantes desta espécie nos manguezais brasileiros, como demonstrado anteriormente por Joly (1954). Entretanto, alguns problemas taxonômicos persistem. A ocorrência dos ramos monossifônicos de última ordem em *B. moritziana* demonstrou ser útil para separar a espécie de *B. radicans*, contudo, a capacidade de *B. radicans* desenvolver esta característica sob diversas condições experimentais, aspecto extensamente discutido por vários autores (Zuccarello & West 2006; Pedroche *et al.* 1995) não pode ser verificada nos representantes brasileiros do gênero. Este e outros aspectos devem ser melhor estudados em abordagens futuras de suma importância para o esclarecimento das relações específicas deste grupo no Brasil.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Programa de Pós-Graduação em Botânica/PPGB e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES).

Referências bibliográficas

- Cordeiro-Marino, M. 1978. Rodofíceas marinhas bentônicas do Estado de Santa Catarina. **Rickia** 7(1): 1-243.
- Cunha, S. R. & Costa, C. S. B. 2002. Gradientes de salinidade e frequência de alagamento como determinantes da distribuição e biomassa de macroalgas associadas a troncos de manguezais na Baía de Babitonga, SC. **Notas Técnicas Facimar** 6: 93-102.
- Cutrim, M.V. J. & Azevedo, A. C. G. 2005. Macroalgas. Pp. 53-79. In: M. E. B. Fernandes (org.). **Os manguezais da costa norte brasileira** 2. Maranhão, Fundação Rio Bacanga.
- Eston, V. R.; Braga, M. R. A.; Cordeiro-Marino, M.; Fuji, M. T. & Yokoya, N. S. 1992. Macroalgal colonization patterns on artificial substrates inside southeastern Brazilian mangroves. **Aquatic Botany**. 42: 315-325.
- Falkenberg, P. 1901. Die Rhodomelaceen des golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte. **Fauna und Flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte** 26: 1-754.

Fernandes, M. E. B.; Silva, E. F.; Lima, J. F.; Varela, E. S.; Hercos, A. P.; Fernandes, C. M.; Arruda, C. C. B.; Gomes, G.; Santos H.; Soares, C. & Saraiva, R. M. 2005. Distribuição espacial das macroalgas associadas as florestas de mangue na Península de Ajuruteua, Bragança - Pará. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia 18**: 11-17.

Ferreira-Correia, M.M., 1983. **Rodofíceas marinhas bentônicas do litoral oriental do Estado do Maranhão**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Instituto de Biociências, Rio Claro. 226p.

Fontes, K. A. A.; Pereira, S. M. B. & Zickel, C. S. 2007. Macroalgas do “Bostrychietum” aderido em pneumatóforos de duas áreas de manguezal do Estado de Pernambuco. **Iheringia – Série Botânica 62**: 31-38.

Fujii, M. T.; Yokoya, N. S. & Cordeiro-Marino, M. 1992. *Stictosiphonia kelanensis* (Grunow ex. Post) King & Puttock (Rhodomelaceae, Rhodophyta) a new record from atlantic mangroves. **Hoehnea 17 (2)**: 93-97.

Herz, R. 1991. **Manguezais do Brasil**. São Paulo: Instituto Oceanográfico. 54 p.

Horta, P. A.; Amancio, E.; Coimbra, C. S. & Oliveira, E. C. 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. **Hoehnea 28**: 243-265.

Joly, A. B. 1954. The genus *Bostrychia* Montagne in southern Brazil. taxonomic and ecological data. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo. série Botânica 11**: 55-74.

King, R. J.; Puttock, C. & Paula, E. J. 1991. The morphology of *Bostrychia pilulifera* .Montagne (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Japanese Journal of Phycology 39**: 31-36.

King, R. J.; Puttock, C. F. & Vickery, R. S. 1988. A taxonomic study on the *Bostrychia tenella* complex (Rhodomelaceae. Rhodophyta). **Phycologia 27**: 10-19.

King, R. J. & Puttock, C. F. 1989. Morphology and taxonomy of *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Australian Systematic Botany 21**: 1-73.

Melville, F. & Pulkownik, A. 2007. Seasonal and spatial variation in the distribution of mangrove macroalgae in the Clyde river, Australia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** **71**: 683-690.

Oliveira, E. C. 1984. Brazilian mangal vegetation with special emphasis on the seaweeds. Pp. 55-65. In: Por, F. D; Dor, I. (org.) **Hyrobiology of the mangal**. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.

Oliveira Filho, E. C. 1969. Algas marinhas do sul do Estado de Espírito Santo (Brasil). I – Ceramiales. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo. série. Botânica** **26**: 1-277.

Paula; E. J.; Ugadim, Y. & Kangawa, A. I. 1989. Macroalgas de manguezais da Ilha de Maracá – Estado do Amapá, Brasil. **Insula** **19**: 95-114.

Pedroche, F. F.; West, J. A.; Zuccarello, G. C.; Senties, A.G. & Karsten, U. 1995. Marine red algae of the mangroves in Southern Pacific México and Pacific Guatemala. **Botanica Marina** **38**: 111-119.

Phillips, A.; Lambert, G.; Granger, J. E. & Steinke, T. D. 1996. Vertical zonation of epiphytic algae associated with *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. pneumatophore at Beachwood mangroves Nature Reserve, Durban. South Africa. **Botanica Marina** **39**: 167-175.

Post, E. 1936. Systematische und pflanzengeographische Notizen zur *Bostrychia-Caloglossa* Assoziation. **Reviste. Algologike** **9**: 1-84.

Post, E. 1939. Weitere daten zur webreitung des Bostrychietum III. **Archiv für Protistenkunde** **93**: 6-37.

Tanaka, J. & Chihara, M. 1987. Species composition and vertical distribution of macroalgae in brackish waters of Japanese mangrove forests. **Bulletin National of Science Mu** **13 (4)**: 140-150.

Tanaka, J. & Chihara, M. 1984. Taxonomic studies of Japanese mangrove macroalgae I. genus *Bostrychia*. (Ceramiales, Rhodophyceae) (1) **IBID** **10 (3)**: 115-126.

Taylor, W. R. 1960. **Marine algae of the Eastern Tropical and Subtropical coasts of the Americas**. Ann. Arbor: University of Michigan Press. 870 p.

- West, J.; Zuccarello, G. C.; Hommersand, M.; Karsten, U. & Gors, S. 2006. Observation on *Bostrychia radicata* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). **Phycological Research** **54**: 1–14.
- Wynne, M. J. 2011. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: third revision. **Nova Hedwigia** **140**: 1-166.
- Yokoya, N. S.; Plastino, E. M.; Braga, M. R. A.; Fujii, M. T.; Cordeiro-Marino, M.; Eston, V. R. & Harari, J. 1999. Temporal and spatial variations in the structure of macroalgal communities associated with mangrove trees of Ilha do Cardoso, São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** **22(2)**: 195-204.
- Zuccarello, G. C. & West, J. A. 1995. Hybridization studies in *Bostrychia*. 1. *B. radicans* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Pacific and Atlantic North America. **Phycological Research** **43**: 233–40.
- Zuccarello, G. C. & West, J. A. 1997. Hybridization studies in *Bostrychia*. 2. Correlation of crossing data and plastid DNA sequence data within *B. radicans* and *B. moritziana* (Ceramiaceae, Rhodophyta). **Phycologia** **36**: 293–304.
- Zuccarello, G. C. & West, J. A. 2003. Multiple cryptic species: molecular diversity and reproductive isolation in the *Bostrychia radicans/Bostrychia moritziana* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) with focus on North American isolates. **Journal of Phycology** **39**: 948–959.
- Zuccarello, G. C. & West, J. A. 2006. Molecular phylogeny of the subfamily bostrychioideae (ceramiaceae, rhodophyta): subsuming *stictosiphonia* and highlighting polyphyly in species of *Bostrychia*. **Phycologia** **45(1)**: 24–36.
- Zuccarello, G. C. & West, J. A. 2002. Phylogeography of the *Bostrychia calliptera/B. pinnata* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) and divergence rates based on nuclear, mitochondrial and plastid DNA markers. **Phycologia** **41**: 49–60.
- Zuccarello, G. C., West, J. A. & King, R. J. 1999. Evolutionary divergence in the *Bostrychia moritziana/B. Radicans* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta): molecular and hybridization data. **Phycologia** **38**: 234–44.

Documentos Suplementares

Lista de Figuras

Figura 1. Distribuição dos representantes do gênero *Bostrychia* Mont. nos manguezais da costa brasileira (baseado em amostras coletadas e registros de herbários).

Figura 2. *Bostrychia calliptera* (Mont.) Mont. A. Aspecto geral. B. Peripherohapteron (seta). C. Padrão de ramificação. D. Corte transversal do eixo principal. E. Hifas internas (seta) no eixo principal. P1-6: células pericentrais, CA: célula axial.

Figura 3. *Bostrychia montagnei* Harv. A. Aspecto geral. B. Corte transversal do eixo principal. *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kütz.) J. Agardh. C. Aspecto geral. D. Cladohapteron (setas). E. Ramos monossifônicos de última ordem ramificados dicotomicamente. F. Corte transversal do eixo principal.

Figura 4. *Bostrychia pilulifera* Mont. A. Aspecto geral. B. Padrão de ramificação e cladohapteron (setas). C. Detalhe do cladohapteron (setas).

Figura 5. *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. A. Aspecto geral da amostra PEUFR 50936 e cladohapteron (setas). B. detalhe do cladohapteron (setas). C. Corte transversal do eixo principal (amostra PEUFR 50936) evidenciando 9 células pericentrais. D. Aspecto geral da amostra PEUFR 50940 e cladohapteron (setas). E. Corte transversal do eixo principal evidenciando dez células pericentrais (amostra PEUFR 50940).

Figura 6. *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh. A. Aspecto geral da amostra PEUFR 50945. B. Peripherohapteron (seta). C. Padrão de Ramificação. D. Detalhe do padrão de ramificação. E. Aspecto geral da amostra PEUFR 50944. F. Padrão de ramificação. G. Detalhe do padrão de ramificação.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Relação do material coletado do gênero *Bostrychia* Mont. nos manguezais da costa brasileira. Locais de coletas geo-referenciados.

Tabela 2. Principais critérios taxonômicos utilizados na identificação das espécies do gênero *Bostrychia* Mont. dos manguezais da costa brasileira baseados em King & Puttock (1989). I. Morfológicos; II. Anatômicos; III. Reprodutivos; p: polissifônicos; m: monossifônico; *: estrutura não observada.

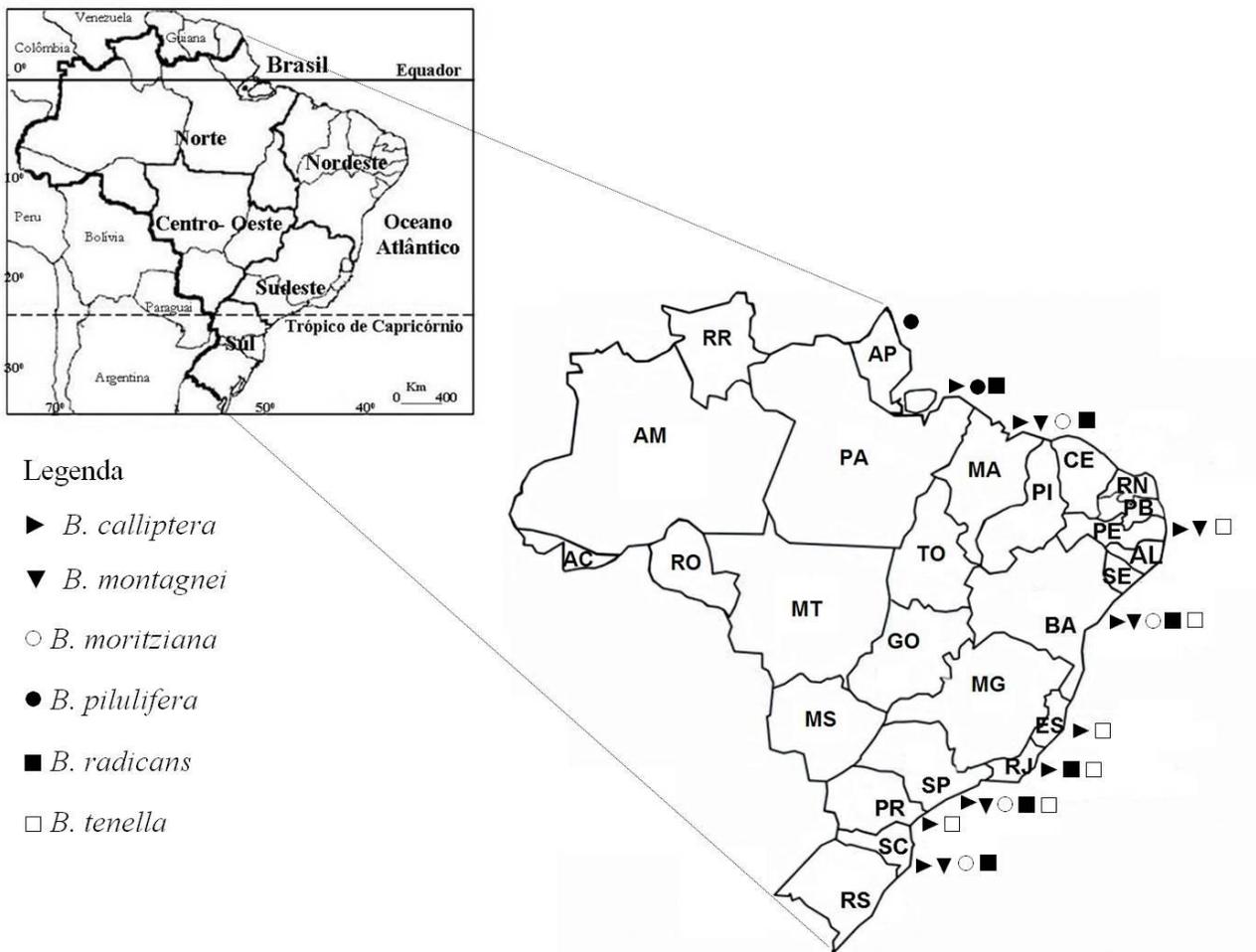


Figura 1

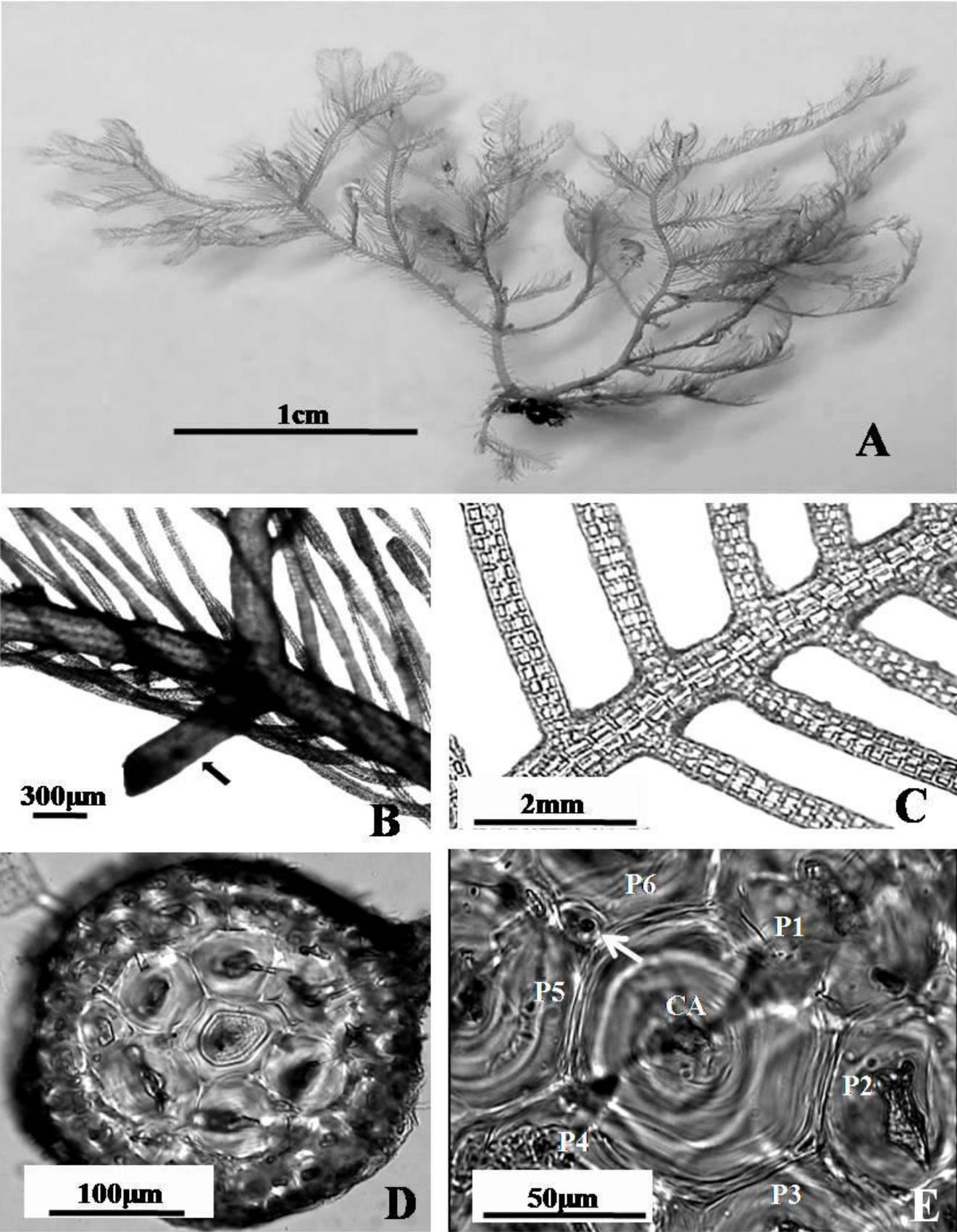


Figura 2

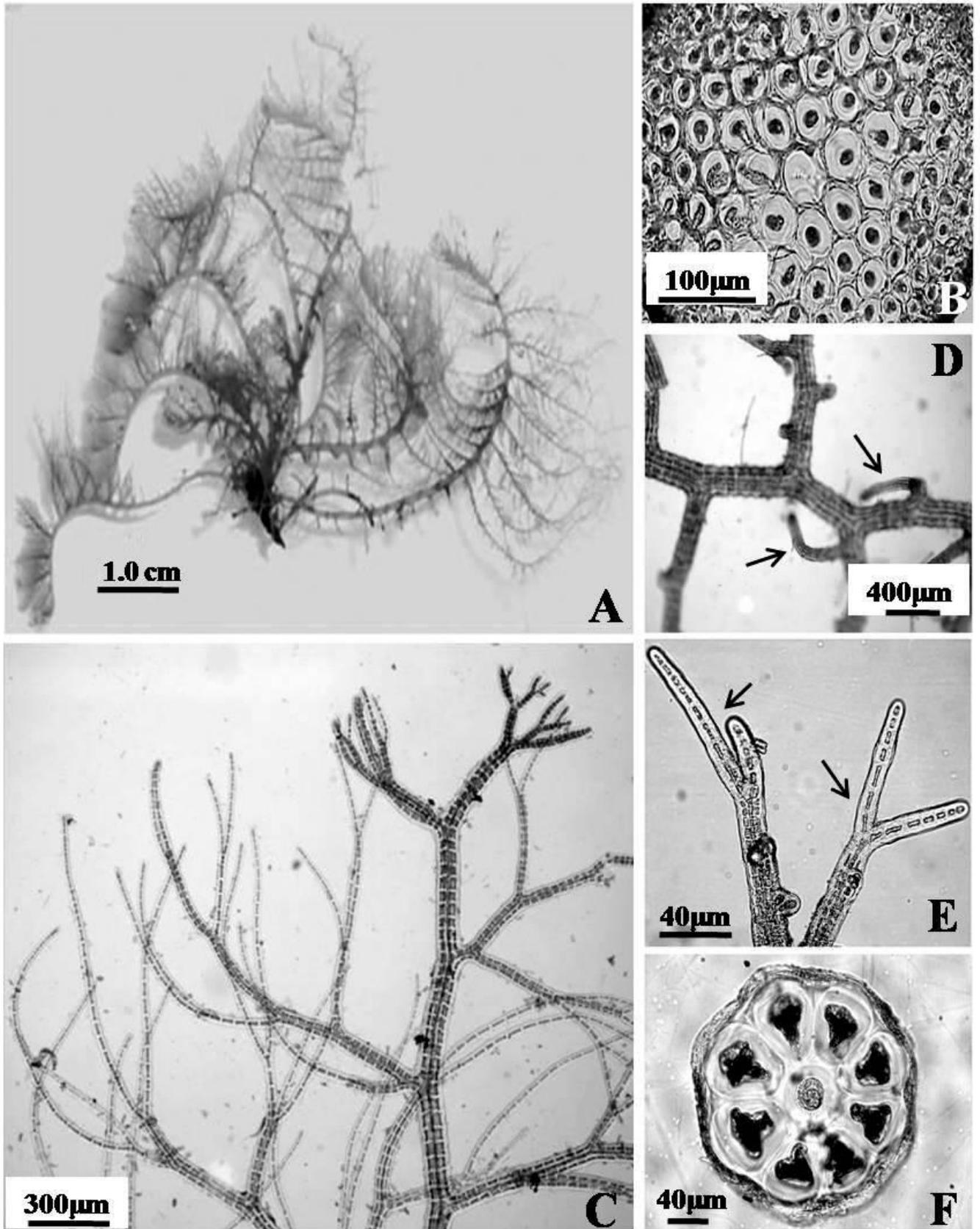


Figura 3

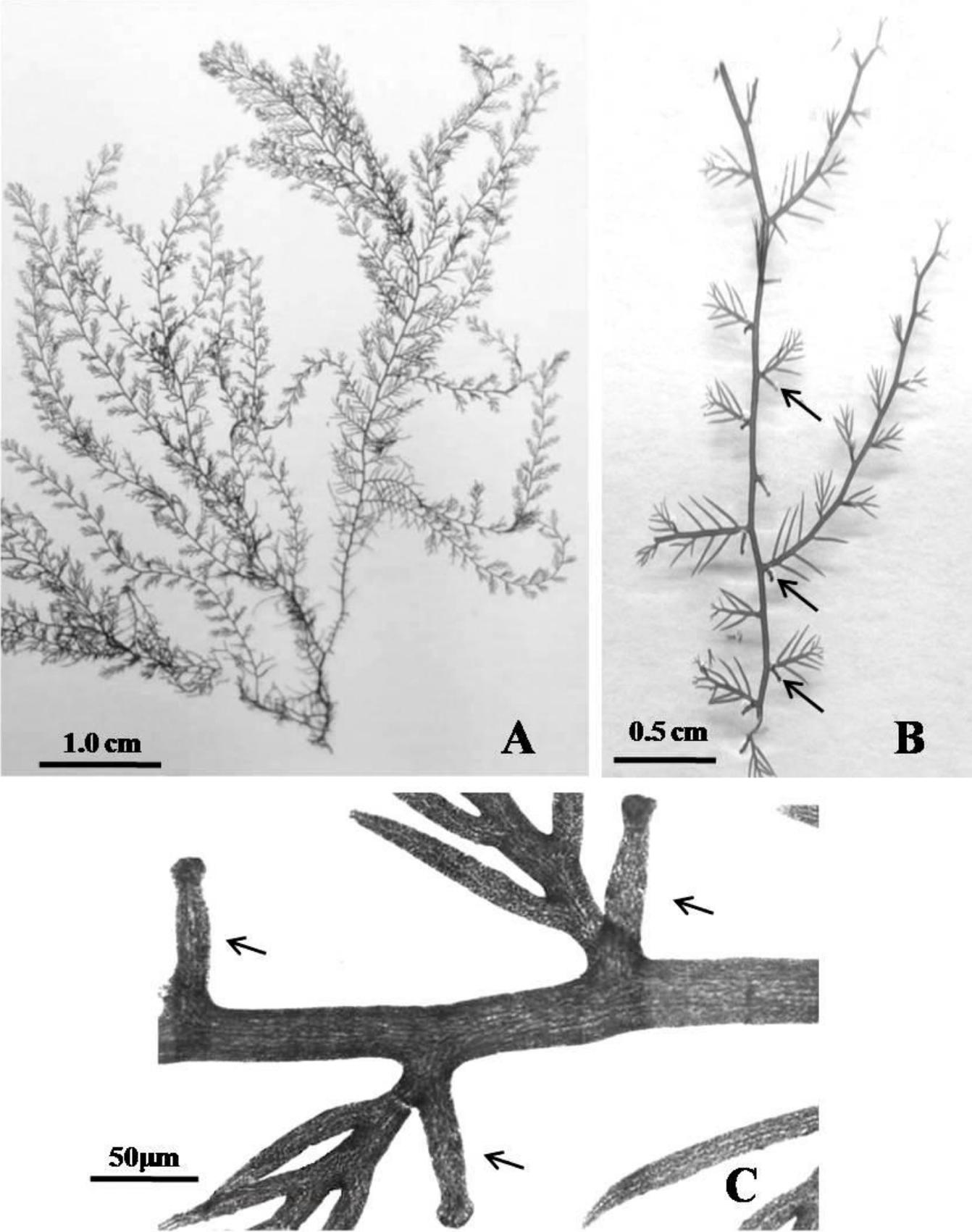


Figura 4

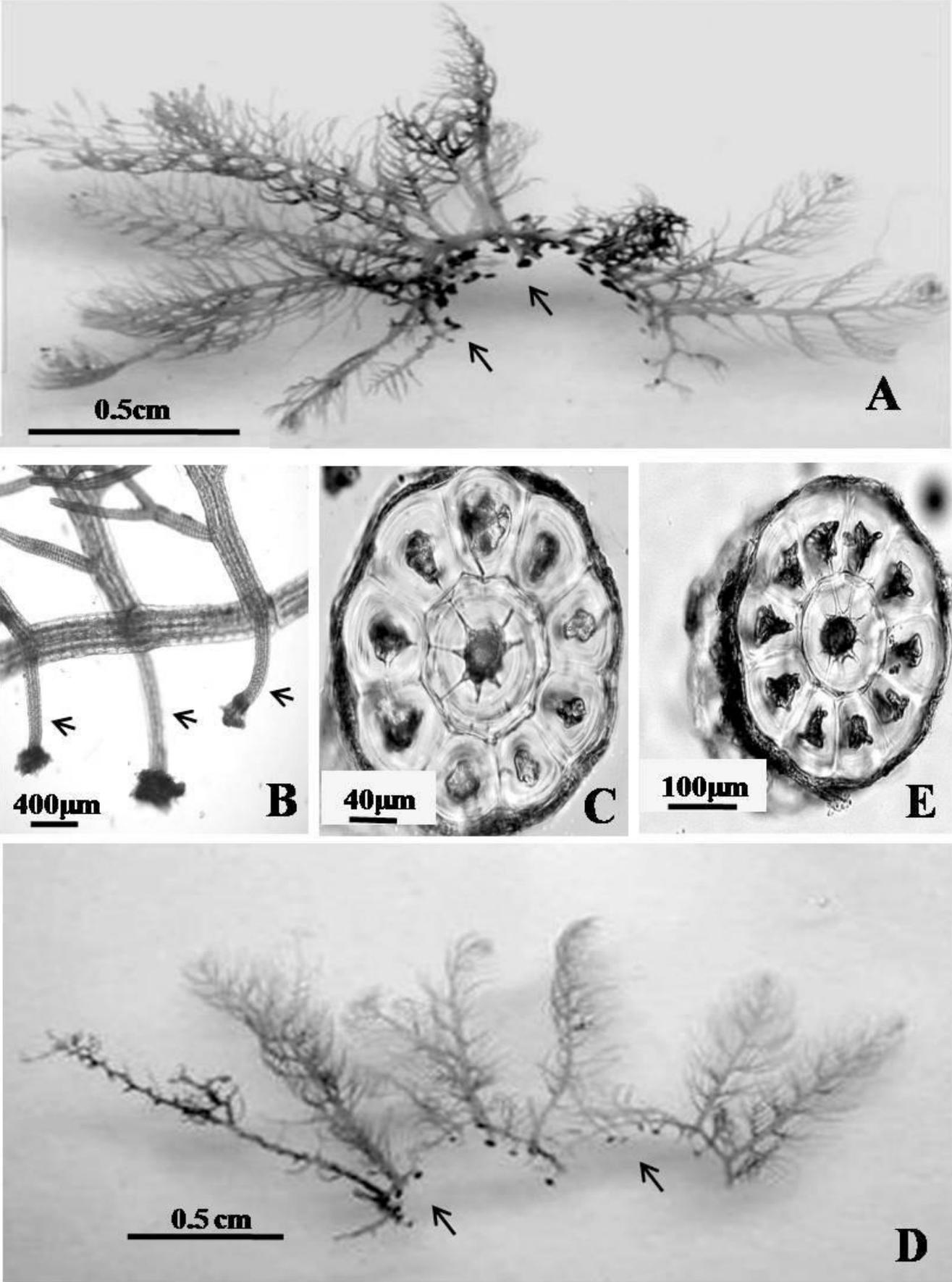


Figura 5

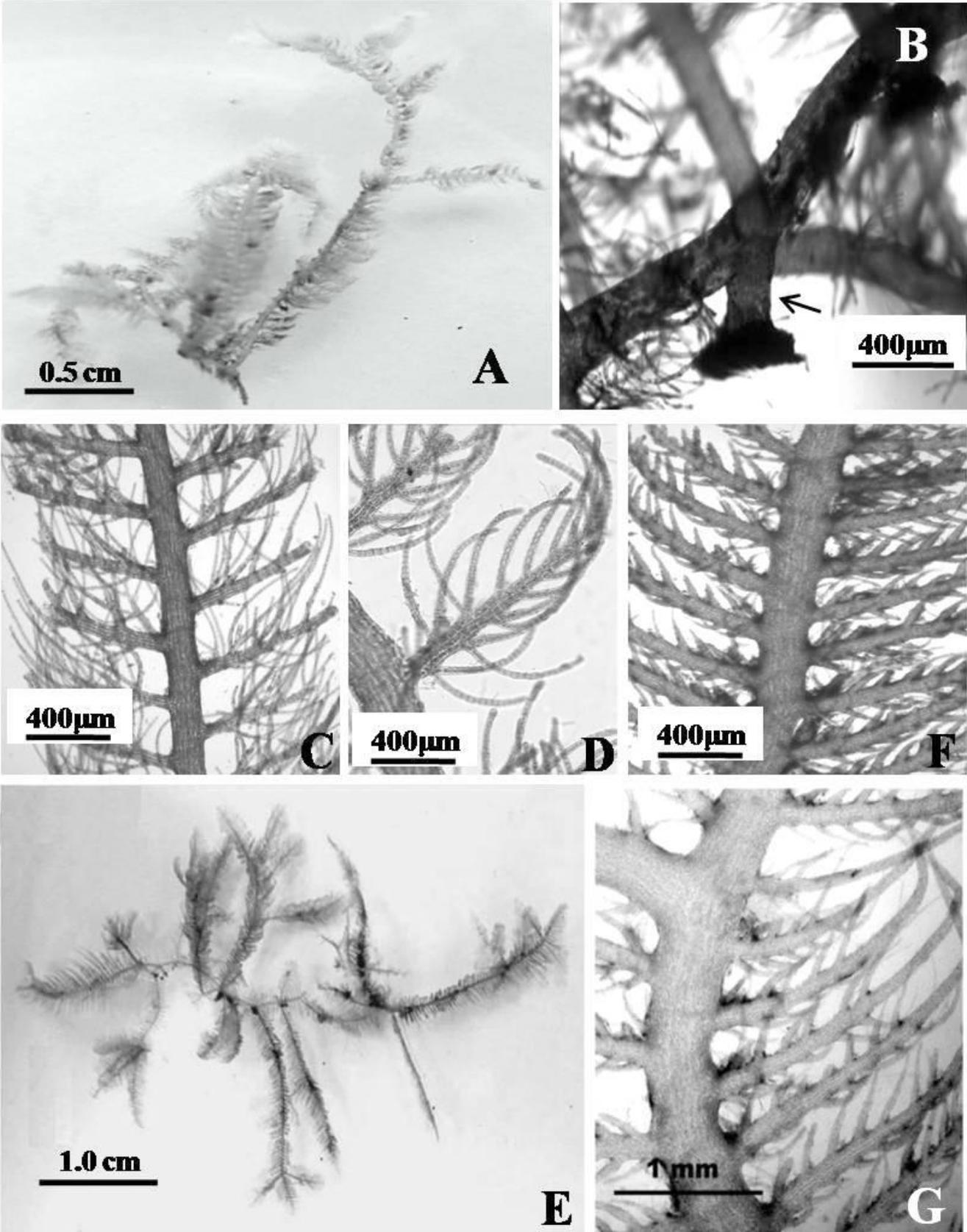


Figura 6

TABELA 1

Taxon	Região	Local de coleta	Data	Coletor	Nº de Registro
<i>Bostrychia calliptera</i> (Montagne) Montagne	Norte	Bragança, PA (0°50'42.08"S; 46°38'51.08"O)	13/04/2009	Khey A. A. Fontes	50926
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Bragança, PA (0°50'42.08"S; 46°38'51.08"O)	14/04/2009	Khey A. A. Fontes	50936
<i>Bostrychia calliptera</i> (Montagne) Montagne	Nordeste	São Luís,MA (2°35'35.00"S; 44°24'13.00"O)	08/09/2010	Cícero Alves	50927
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		São Luís,MA (2°35'35.00"S; 44°24'13.00"O)	01/12/2010	Khey A. A. Fontes	50948
<i>Bostrychia calliptera</i> (Montagne) Montagne		Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/05/2009	Khey A. A. Fontes	50928
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.		Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/05/2009	Khey A. A. Fontes	50944
<i>Bostrychia montagnei</i> Harvey		Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/05/2009	Khey A. A. Fontes	50931
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50945
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50937
<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50950
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50938
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50939
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Taperoá,BA (13°32'09.83"S; 39°05'31.56"O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50941
<i>Bostrychia montagnei</i> Harvey		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50932
<i>Bostrychia calliptera</i> (Montagne) Montagne		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50929
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50940
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/08/2009	Khey A. A. Fontes	50945	
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Sudeste	Ilha do Cardoso, SP (25°09'20.9"S; 47°54'55.9"O)	01/06/2010	Natália Guimarães	50946
<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.		Ilha do Cardoso, SP (25°09'20.9"S; 47°54'55.9"O)	01/06/2010	Natália Guimarães	50947
<i>Bostrychia montagnei</i> Harvey	Sul	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50933
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50943
<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh		Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50934
<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.		Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50942
<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh		Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50935
<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.		Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	04/11/2009	Khey A. A. Fontes	50930

TABELA 2

Caracteres Morfo-anatômicos		Espécies					
		<i>B. calliptera</i>	<i>B. montagnei</i>	<i>B. moritziana</i>	<i>B. pilulifera</i>	<i>B. radicans</i>	<i>B. tenella</i>
I	Altura(cm)	5,08±0,97	4,63±0,45	1,23±0,41	5,59±1,53	1,55±0,50	2,57±0,58
	Ordens de ramificação	1-3	2-4	1-3	1-3	1-3	1-3
	Comprimento do eixo principal (cm)	9,73±1,33	6,23±0,53	1,35±0,30	3,60±1,05	1,66±0,26	5,05±0,6
	Comprimento do ramo lateral (mm)	2,53±0,6	3,29±1,03	2,57±0,6	3,38±0,29	3,35±0,31	2,54±0,77
	Ramos de última ordem	p	p/m	m	p	p	p/m
	Tipo de hapteron	Peripherohapteron	Peripherohapteron	Cladohapteron	Cladohapteron	Cladohapteron	Peripherohapteron
II	Número de camadas corticais no eixo principal	1-2	3-4(-5)	0	2-3	0	1-3
	Número de células pericentraes no eixo principal	6(7)	(5)7(8)	7-10	6-8	8 -10	6(7)
	Diâmetro do eixo principal (µm)	402,55±26,90	639,00±91,51	204,77±19,23	507,50±59,56	234,50±21,90	279,00±32,43
	Diâmetro das hifas internas (µm)	28,23± 5,87	*	*	*	*	*
III	Comprimento do Estiquídio (µm)	850,83±50,71	591,96±85,88	*	828,57±81,33	835,26±99,91	735,00±93,37
	Diâmetro dos tetrasporângios (µm)	53,08±8,55	40,73±5,66	*	*	61,38±6,47	40,00±7,61
	Forma e diâmetro (µm) do cistocarpo	*	*	*	*	Ovóide; 339,20±52,35	Globular; 586,00±100,35

Artigo II : Diversidade de espécies do gênero *Bostrychia* Montagne ocorrentes em áreas de manguezal da costa brasileira baseada em marcadores moleculares – Manuscrito a ser enviado para a Revista Botanica Marina

Diversidade de espécies do gênero *Bostrychia* Montagne ocorrentes em áreas de manguezal da costa brasileira baseada em marcadores moleculares

Khey Albert de Azevedo Fontes¹; Mariana Cabral de Oliveira²; Sonia Maria Barreto Pereira³

1. Doutorando do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco. PPGb/UFRPE. kheyalbert@yahoo.com.br

2. Departamento de Botânica – IB/USP. Rua do Matão, 277, Cid. Universitária, São Paulo, SP. mcdolive@usp.br

3. Departamento de Botânica – UFRPE. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE. Soniabp@terra.com.br

Abstract

This work aimed to analyze the diversity of the genus *Bostrychia* Mont. occurring in many mangrove areas along the Brazilian coast. Samples were collected in six previous selected areas of mangrove along the Brazilian coast, and preserved both for morphological and molecular work. Two plastids markers UPA and parcial *rbcL* and a mitochondrial marker *cox1* were PCR amplified and sequenced. Consensus-sequences obtained were aligned with other sequences obtained from GenBank. The UPA, *cox1* and *rbcL* marker variations observed in the samples of the genus *Bostrychia* from the mangroves along the brazilian coast indicated that there are at least six different species. Two different lineages of *B. radicans* (Mont.) Mont. In Orb. were observed using the molecular markers. All the molecular data obtained suggest that *B. binderi* Harvey must be recognized as a different taxonomic entity from *B. tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh.

Key words: *Bostrychia*, *cox1*, mangrove, *rbcL*, UPA.

Introdução

O gênero *Bostrychia* Mont. (Ceramiales, Rhodophyta) apresenta ampla distribuição nas regiões tropicais ocorrendo frequentemente em manguezais, marismas, além de frestas e fendas abrigadas de recifes e costões rochosos (King e Puttock 1989). O gênero apresenta 17 espécies com talos robustos a delicados com fixação ao substrato por meio de ramos modificados denominados de hapteron (King e Puttock 1989, Zuccarello e West 2006, West *et al.* 2006). Seus representantes integram a associação de macroalgas conhecida como “Bostrychietum” (Post 1936, 1939) frequentemente ocorrente em áreas de manguezal tanto no Brasil como em outras partes do mundo juntamente com *Caloglossa* (Harv.) G. Martens e *Catenella* Greville (Pedroche *et al.* 1995).

A taxonomia do grupo, baseada apenas em critérios morfoanatômicos, apresenta vários problemas que dificultam a delimitação precisa de várias espécies. Um variado número de complexos específicos evidencia a elevada conspecificidade e plasticidade morfológica entre os seus representantes (Børgesen 1937, Post 1939, King *et al.* 1988). O gênero *Bostrychia* constitui-se num exemplo claro sobre a dificuldade em identificar espécies baseado apenas em caracteres morfológicos tradicionais. Esta dificuldade,

marcante nas macroalgas vermelhas, desafia até mesmo o sistemata mais experiente (Clarkston e Saunders 2010, Saunders 2008).

King e Puttock (1989) realizaram uma importante abordagem taxonômica sobre subfamília Bostrychioideae, considerando praticamente os mesmos critérios taxonômicos de Falkenberg (1901). Os autores confirmaram a existência de dois gêneros distintos (*Bostrychia* e *Stictosiphonia*) a partir de duas características importantes: padrão de crescimento do talo e número de camadas de células pericentraes para cada célula axial. Contudo, a persistência de problemas taxonômicos implicava o uso de outras formas de caracterização como os marcadores moleculares para sua elucidação por parte dos pesquisadores do gênero. Zuccarello e West (2003) encontraram sete linhagens diferentes dentro do complexo *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb./ *Bostrychia moritziana* (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh a partir de amostras coletadas em diferentes locais utilizando marcadores moleculares mitocondriais (região espaçadora *cox2-3*) e plastidiais (região espaçadora *rbcL-S*). De fato, um número cada vez maior de abordagens baseadas na identificação de espécies usando a variação do DNA tem-se mostrado significativamente eficiente na elucidação de problemas na taxonomia de variados grupos de organismos (Herbert *et al.* 2003).

Zuccarello e West (2006), objetivando uma análise taxonômica da subfamília Bostrychioideae sob uma perspectiva molecular, avaliaram a filogenia de dois marcadores moleculares (*rbcL* e 26S rRNA) no intuito de confirmar a separação dos dois gêneros existentes (*Stictosiphonia* e *Bostrychia*) baseada no número de camadas de células pericentraes por célula axial afirmado por King e Puttock (1989). A filogenia destes marcadores, aliada a observações morfológicas, revelou-se bastante elucidativa. Os autores observaram que *Stictosiphonia* e *Bostrychia* não são dois gêneros distintos, contudo confirmaram suporte molecular para os grupos *Ramifulcrateae* e *Flagelifulcrateae* (Post 1936), além de observar que *Bostrychia* contém espécies polifiléticas.

A busca por marcadores moleculares universais que possibilitem o entendimento da variação em um número cada vez maior de organismos, muito embora de difícil execução (Provan *et al.* 2004, Stiller e McClanahan 2005), tem alcançado efetivo sucesso (Clarkston e Saunders 2010, Saunders 2005). A técnica de “DNA barcoding” foi proposta no intuito de amenizar as limitações inerentes aos variados sistemas de identificação baseados principalmente em critérios relacionados à morfologia dos

organismos (Herbert *et al.* 2003). O “DNA barcoding” é baseado em sequências de DNA relativamente curtas que permitem a identificação de espécies, aliado à taxonomia tradicional apresenta praticidade e aplicação eficientes em levantamentos de biodiversidade e conservação, podendo ser aplicado mesmo quando métodos tradicionais de identificação não são viáveis (Milstein *et al.* 2011).

Sob esta perspectiva, *primers* universais plastidiais (por exemplo, a região denominada de UPA (Universal Plastid Amplicon) foram propostos a partir da análise de 37 genomas plastidiais oriundos de variadas amostras de linhagens de algas e plantas (Presting 2006). Análises posteriores mostraram que a marcada universalidade dos primers para este marcador permitia aos autores avaliar a variação molecular dos grandes grupos de macroalgas (Sherwood e Presting 2007), revelando-se numa eficiente ferramenta para a busca de soluções taxonômicas ocorrentes nos variados grupos de algas, além de se constituir um importante marcador alternativo para DNA barcoding (Clarkston e Saunders 2010).

No intuito de promover um maior esclarecimento taxonômico, além de inferir aspectos de distribuição geográfica, este trabalho se propôs a analisar a diversidade dos representantes do gênero *Bostrychia* através da análise da variação molecular dos marcadores plastidiais 23S rDNA Domínio V – UPA e *rbcL* e do marcador mitocondrial *cox1* encontrada nos representantes do gênero ocorrentes em diversas áreas de manguezal da costa brasileira.

Materiais e métodos

Amostras de diferentes morfotipos de *Bostrychia* foram coletadas em seis áreas de manguezal do litoral brasileiro previamente selecionadas segundo Horta *et al.* (2001) (Tabela 1; Fig. 1). As plantas foram coletadas nas zonas entre-marés, durante as marés baixas, com auxílio de espátula, imediatamente acondicionadas em tubos de falcon (50 mL) contendo etanol P.A. e levadas ao laboratório para posterior triagem e identificação dos táxons.

No laboratório, o material algal foi triado e a identificação foi baseada em literatura especializada (King e Puttock 1989, Post 1936, Pedroche *et al.* 1995). Amostras das partes mais jovens dos espécimes foram retiradas e acondicionadas em sílica gel para as análises moleculares posteriores. Após essa etapa todo o material foi herborizado conforme as técnicas usuais da ficologia marinha e as exsicatas foram incorporadas ao

Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PEUFR 50926 – 31; 50933 – 35; 50937 – 46).

O DNA das amostras foi extraído utilizando-se o Kit de extração Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Para a amplificação por PCR utilizou-se o Kit Taq DNA Polymerase Recombinant (Invitrogen) e seguiu-se três protocolos seguintes. Para a região UPA plastidial foram adicionados em mini-tubos 2 µL de DNAt (DNA total de cada amostra), 1 µL de primer plastidial UPA (Sherwood e Presting 2007) p23Sr_Vf1 GGA CAG AAA GAC CCT ATG AA, 1 µL de p23Sr_Vr 1TCC TAG GGA TAA CAC GGA GT, 38,25 µL de H₂O MilliQ Autoclavada, 5 µL de 10X PCR Buffer, 1,5 µL de 50 mM MgCl₂ Buffer, 1 µL de dntp 10 µM, 0,25 µL da enzima Taq DNA Polymerase (5U/ µL) perfazendo um volume de 50 µL para a reação. Foram seguidas as seguintes condições de ciclo: desnaturação inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 20 s, 55°C por 30 s, e 72°C por 30 s com uma extensão final de 72°C por 10 min.

Para a amplificação da região mitocondrial da subunidade I da citocromo-oxidase (*cox1*), foram adicionados em mini-tubos 3 µL de DNAt, 1 µL de *primer* GazF1 (Saunders 2005) 5' TCAACAAATCATAAAGATATTGG 3', 1 µL de *primer* GazR1 5' ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA 3', 37,25 µL de H₂O MilliQ Autoclavada, 5 µL de 10X PCR Buffer, 1,5 µL de 50 mM MgCl₂ Buffer, 1 µL de dntp 10 µM, 0,25 µL da enzima Taq DNA Polymerase (5U/ µL) perfazendo um volume de 50 µL para a reação. As condições de ciclo foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 20 s, 55°C por 30 s, e 72°C por 30 s com uma extensão final de 72°C por 10 min.

Para a amplificação da região plastidial da subunidade maior do gene da ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (*rbcL*), foram adicionados em mini-tubos 3 µL de DNAt, 1 µL de *primer* F993 5'GGTACTGTTGTAGGTAAATTWGAAGG 3', 1 µL de *primer* RrbcS 5'GTTCTTGTGTTAATCTCAC 3', 37,25 µL de H₂O MilliQ Autoclavada, 5 µL de 10X PCR Buffer, 1,5 µL de 50 mM MgCl₂ Buffer, 1 µL de dntp 10 µM, 0,25 µL da enzima Taq DNA Polymerase (5U/ µL) perfazendo um volume de 50 µL para a reação. As condições de ciclo seguidas foram modificadas de Zuccarello e West (2002): desnaturação inicial a 94°C por 4 min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 1 min., 45°C por 1 min., e 72°C por 2 min. com uma extensão final de 72°C por 7 min.

Todos os produtos de PCR tiveram seus tamanhos checados através da corrida de eletroforese em gel de agarose 2%. Os produtos da PCR foram purificados com o kit GTX PCR DNA and Gel Band Purification (GE) de acordo com as recomendações do fabricante. Logo em seguida as amostras foram sequenciadas com os mesmos *primers* da PCR, utilizando-se o BigDye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Applied Biosystems). A reação de sequenciamento foi realizada seguindo os protocolos: para a sequência direta, foram adicionados em mini-tubos 2 µL de Big Dye, 2 µL de Buffer (5X), 1 µL de *primer* F, 2 µL de produto de PCR purificado e 3 µL de H₂O MilliQ Autoclavada, totalizando um volume de 10 µL para a reação; para a sequência reversa, foram adicionados em mini-tubos 2 µL de Big Dye, 2 µL de Buffer (5X), 1 µL de *primer* R, 2 µL de produto de PCR purificado e 3 µL de H₂O MilliQ Autoclavada, totalizando um volume de 10 µL para a reação. As condições de ciclo foram: 40 ciclos de 96°C por 10 seg., 54°C por 20 seg. e 60°C por 4 min.

As precipitações dos produtos obtidos foram feitas adicionando-se aos mini-tubos 1 µL de EDTA 125 mM, 1 µL de Acetato de Sódio 3M e 25 µL de Etanol P.A. (100%), os quais foram envolvidos em papel alumínio e mantidos em temperatura ambiente por 15 min. Logo em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C, 14.000 rpm por 25 min. e os sobrenadantes foram descartados com auxílio de micropipetas. Em seguida, foram adicionados 35 µL de Etanol (70%) com nova centrifugação a 4°C, 14.000 rpm por 15 min. Os sobrenadantes foram desprezados e o produto foi seco em centrifuga a vácuo por aproximadamente 60 min. As amostras de DNA foram sequenciadas em sequenciador automático ABI PRISMTM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). As sequências direta e reversa obtidas foram alinhadas manualmente usando o programa BioEdit (Hall 1999) para construção das sequências-consensos. Todos os alinhamentos foram revistos manualmente utilizando os cromatogramas das sequências. Para a elaboração da matriz das sequências, as sequências-consenso obtidas foram alinhadas no Clustal W 35 (dentro do programa BioEdit) utilizando-se como grupos externos as sequências HQ421623 (*Heterosiphonia crispella*) para o UPA, AY970625 (*Neodilsea borealis*) para o *cox1* e AY958166 (*Polysiphonia stricta*) para o *rbcL*, obtidas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

As análises filogenéticas para neighbour-joining (NJ) e máxima parcimônia (MP) foram feitas no programa PAUP 4.0b8 (Swofford 2000). Para o método de distância, foi construída uma árvore de neighbour-joining “NJ” (Saitou e Nei 1987) com o modelo de

substituição de Tamura e Nei (1993). A árvore de máxima parcimônia (MP) foi inferida por busca heurística. As árvores iniciais foram obtidas pelo algoritmo “stepwise addition” ou adição passo a passo, com adição de seqüências ao acaso (10 replicatas) e rearranjadas pelo algoritmo “branch-swapping: tree bisection-reconnection” (TBR). Em ambas as árvores de NJ e MP, as lacunas foram consideradas como dados ausentes e foi dado o mesmo peso para todos os sítios. Análises de “bootstrap” (Felsenstein 1985) foram feitas com 2000 replicatas para os métodos descritos acima.

Resultados

A região UPA foi sequenciada para 22 amostras, a região *cox1* foi sequenciada para nove amostras e a região 3' do gene *rbcL*, para 10 amostras de *Bostrychia* conforme a Tabela 1. As seqüências obtidas tiveram 370 pares de base (pb) para o UPA, 664 pb para o *cox1* e 557 pb para a região 3' do *rbcL* sequenciada. As seqüências obtidas foram comparadas e agrupadas usando uma análise de Neighbor Joining (Fig. 2, 3 e 4). As análises dos marcadores utilizados apontam para a existência de ao menos seis espécies distintas entre as amostras analisadas, além de uma outra possível espécie críptica em *B. radicans*, entretanto baseado na morfologia, apenas cinco espécies foram identificadas. (Tabelas 2, 4 e 5).

As análises do UPA mostram que quatro indivíduos identificados com base na morfologia como *Bostrychia calliptera* Mont. apresentaram seqüências idênticas do marcador UPA analisado formando um grupo monofilético (bootstrap 100%) ocorrente por todo o manguezal brasileiro, do Pará à Santa Catarina (Fig. 1 e 2). As amostras 1 e 24 sequenciadas para o *cox1* também apresentaram seqüências idênticas enquanto que a amostra 24 sequenciada para o *rbcL* agrupou-se com um representante de *B. calliptera* oriunda da Ilha do Cardoso, SP (Fig. 2, 3 e 4; Tabela 1).

O grupo formado por indivíduos identificados como *Bostrychia montagnei* Harv. apresentou uma pequena variação entre os seus componentes quando considerado o marcador UPA (Fig. 2; Tabela 1). Indivíduos coletados em manguezais de Itamaracá, PE (amostra 7) são idênticos a indivíduos coletados em Galeão, BA (amostra 11). Contudo, indivíduos coletados em Florianópolis, SC (amostra 17) apresentaram uma variação de 0,3% (1 nucleotídeo diferente). Este nível de variação é considerada relativamente baixo e tratado como variação intraespecífica. As seqüências de *cox1* obtidas para as amostras 7 e 11 foram idênticas e agruparam-se com duas outras

amostras obtidas no GenBank não identificadas (Fig. 3). As sequências de *rbcL* obtidas para as amostras 7 e 17 também agruparam-se separadamente formando um clado (Fig. 4). Sequências de *B. montagnei* são inéditas para o GenBank.

O grupo formado por indivíduos identificados morfológicamente como *Bostrychia radicans* (Mont.) Mont. in Orb. apresentou dois agrupamentos monofiléticos, um com sete amostras coletadas em diversas áreas de manguezal da costa brasileira que foram idênticas para o UPA e outro com apenas dois indivíduos coletados em Galeão, BA (amostras 14 e 29) apresentaram variação na ordem de 7 nucleotídeos em relação aos outros (Fig. 2). Estes referidos indivíduos ocorreram juntamente com os outros da mesma espécie no mesmo local de coleta (Tabela 1). Esta variação também foi observada nas sequências obtidas para o *rbcL*. A amostra 14 agrupou-se separadamente de outros indivíduos de *B. radicans* que tiveram sequenciadas a devida região do *rbcL* (Fig. 4).

Indivíduos identificados como *Bostrychia moritziana* (Sond. ex Kütz.) J. Agardh também se apresentaram idênticos entre si para o UPA e diferenciaram-se de indivíduos de *B. radicans* (amostras 2, 27, 9, 10, 18, 8 e 20) numa ordem de 2% com 8 nucleotídeos diferentes, e 2,3% com 9 nucleotídeos para as amostras 14 e 29 (Fig. 2; Tabela 1). As sequências obtidas para o *rbcL* confirmam a existência de um complexo entre as espécies de *B. radicans* e *B. moritziana* analisadas.

Indivíduos considerados como *Bostrychia tenella* (J. V. Lamour.) J. Agardh formaram dois grupos diferentes com identidade na ordem de 95,8% e diferenciaram-se em 17 nucleotídeos. Esta variação é significativa quando considerado o marcador UPA. As sequências de *rbcL* obtidas para as amostras 22 e 16 também apresentaram variação elevada (80,7% de similaridade) (Tabela 5). A amostra 22 (SP) apresentou morfologia de *B. binderi* enquanto a amostra 16 (BA) apresentou morfologia de *B. tenella*.

Discussão

Os espécimes identificados como *B. calliptera* nos manguezais da costa brasileira formaram agrupamentos monofiléticos para os três marcadores analisados. Com isso, podemos inferir que indivíduos coletados em Bragança, PA compartilham da mesma origem com indivíduos coletados em áreas muito distantes como Florianópolis, SC, por exemplo (Fig. 2). Os dados obtidos mediante análise de sequências para a região 3' do marcador *rbcL* reforçam este fato, pois indivíduos coletados em Parna Açú - São Luís,

MA agruparam-se com indivíduos coletados na Ilha do Cardoso, SP., cuja sequência estava disponível no Genbank (Fig. 4). Estas estações de coleta são significativamente distantes entre si. Contudo, nossos dados não concordam exatamente com as observações de Zuccarello e West (2002, 2006) que indicaram que *B. calliptera* poderia não ser monofilética, devido principalmente à existência de pelo menos três linhagens diferentes, duas delas ocorrentes no Brasil, observadas no referido táxon. Somente foi possível a observação da Linhagem 3 (L3; Zuccarello e West, 2006), evidente principalmente em dados obtidos para o marcador *rbcL* neste trabalho. Entretanto, os autores sugeriram que os *primers* usados em sua abordagem não foram eficientes para confirmar a não-monofilia da espécie e que *primers* mais específicos devem ser desenhados para resolver a questão levantada. Observou-se, nesta abordagem, que *Bostrychia* se trata de um gênero com marcada variação molecular, mesmo quando se considera marcadores extremamente conservados como o UPA, pois os diversos *primers* utilizados não obtiveram sucesso na amplificação e sequenciamento dos marcadores em todas as amostras coletadas, dificultando, assim a observação de possíveis linhagens ocultas na diversidade genética de indivíduos nas diversas populações sugerida por Zuccarello e West (2011).

B. montagnei apresentou grupos bem consistentes, considerando todos os marcadores utilizados, caracterizando um táxon bem definido e distribuído em manguezais brasileiros (Fig. 2, 3 e 4). As sequências obtidas nesse trabalho para o marcador *rbcL* serão as primeiras depositadas para a espécie no Genbank.

B. radicans e *B. moritziana* apresentaram uma relação de proximidade que já era esperada uma vez que estas duas espécies são tradicionalmente consideradas como constituintes de um complexo (Zuccarello e West 1997, Zuccarello *et al.* 1999) (Fig. 2, 3 e 4). Estas espécies são separadas taxonomicamente apenas pela presença ou ausência dos ramos monossifônicos de última ordem (Post 1936), contudo, diversos autores já questionaram a validade desta característica para a delimitação taxonômica destas espécies, pois em alguns casos, *B. radicans* pode apresentar os ramos monossifônicos característicos de *B. moritziana* (Zuccarello e West 1997, 2003, Pedroche *et al.* 1995). Neste estudo, *B. moritziana* pode claramente ser distinguida de *B. radicans* devido principalmente à variação observada quanto aos marcadores analisados (Tabelas 3, 4 e 5). A presença de ramos monossifônicos de última ordem ramificados dicotomicamente, sugerido em outras abordagens como um critério mais efetivo na delimitação deste

táxon (Zuccarello *et al.* 1999), não foi relevante neste estudo, pois os indivíduos de *B. moritziana* analisados apresentaram tanto ramos monossifônicos dicotômicos quanto ramos monossifônicos simples. Zuccarello e West (2003) já chamavam a atenção para este fato, quando observaram que indivíduos que apresentavam ramos monossifônicos de última ordem ramificados foram encontrados em variadas linhagens evolutivas do referido complexo.

Os dados moleculares confirmam a existência de duas linhagens diferentes de *B. radicans* nos manguezais brasileiros, a Linhagem 1 constitui-se de indivíduos coletados nas variadas áreas de manguezais da costa brasileira visitadas estendendo-se desde o Estado do Pará até o Estado de Santa Catarina. A linhagem 2 é constituída apenas pelos indivíduos 14 e 29 (Tabela 1) coletados em Galeão, BA (Fig. 2). A existência de várias linhagens evolutivamente diferentes em *B. radicans/B. mortiziana* vem sendo extensivamente discutida em abordagens como as de Zuccarello e West (2003, 2006) que encontraram sete linhagens diferentes quando analisaram amostras provenientes de diversas regiões mundiais. Apesar da diversidade molecular, os autores não observaram nenhum critério morfológico entre os indivíduos de *B. radicans* que auxiliasse na delimitação das linhagens encontradas. Neste estudo, os indivíduos que constituem a linhagem 2 apresentam uma característica não compartilhada com os indivíduos da linhagem 1: 10 células pericentrais rodeando cada célula axial por toda a extensão do eixo principal de crescimento. Esta característica, aliada a diferença no número de nucleotídeos das sequências entre os indivíduos das linhagens 1 e 2, podem indicar a existência de uma espécie críptica de *B. radicans* nos manguezais brasileiros. Contudo, o número de células pericentrais constantemente apresenta elevada variação. King e Puttock (1989) indicam que este critério não se constitui numa característica taxonômica “confiável” para a delimitação infragenérica dentro do gênero *Bostrychia*. As sequências obtidas para as amostras de *B. tenella* analisadas (22 e 16, ver Tabela 1) revelaram que o táxon apresenta diferenças moleculares significativas. A variação observada tanto no marcador UPA (95,8% de similaridade; 17 nucleotídeos diferentes) quanto no *rbcL* permitiram agrupar as amostras em clados separados e portanto, indicaram que se tratam de duas entidades taxonômicas diferentes. As diferenças nas características morfológicas observadas entre as duas amostras (tipos de ramos de última ordem, tamanho e forma das células dos ramos monossifônicos, tamanho e forma das células corticais e forma, tamanho e posição dos estiquídios) foram determinantes

para considerarmos a amostra 22 como indivíduo com morfologia de *Bostrychia binderi* Harv. enquanto que a amostra 16 como indivíduo com morfologia de *B. tenella*.

Contudo, King *et al.* (1988) revisaram o “complexo *Bostrychia tenella*”, antes composto por quatro táxons infragenéricos para apenas duas subespécies, considerando que as variações nas características se revelavam como plasticidade morfológica de uma única espécie em resposta a sua distribuição em variados microhabitats. Com isso, *B. binderi* passou a ser considerada um sinônimo de *B. tenella* subsp. *tenella*, um dos dois táxons infragenéricos aos quais o complexo foi reduzido. Entretanto, com base nos dados moleculares observados neste estudo, nós propomos que *B. binderi* seja reconsiderada como uma espécie taxonomicamente independente de *B. tenella*.

Os dados moleculares e as observações morfológicas obtidas neste trabalho indicam que, na costa brasileira, o gênero *Bostrychia* encontra-se bem representado. A utilização dos marcadores moleculares, mesmo com *primers* não tão específicos para o gênero, permitiram a separação eficiente entre os táxons, além da observação de linhagens evolutivas distintas entre seus representantes. *B. radicans* apresenta no mínimo duas linhagens diferentes que precisam ser melhor estudadas, comparando diversas sequências de outras regiões do mundo a fim de definir possíveis novas espécies dentro do complexo. Nossos dados indicam que *B. binderi* deve ser novamente reconhecida como uma espécie separada de *B. tenella*.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Programa de Pós-Graduação em Botânica/PPGB, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (BrBOL 564945/2010-2) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (07/51270-7)

Referências

Borgesen, F. C. E. 1937. Contribution to a South Indian marine algal flora – II. *J. Ind. Bot. Soc.* 16: 311–357.

- Clarkston, B. E. e G. W. Saunders. 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae) with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. *Botany*. 88: 119–131.
- Falkenberg, P. 1901. Die Rhodomelaceen des golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-abschnitte. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-abschnitte*. 26: 1-754.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-91.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Serie* 41:95-98.
- Herbert, P.D.N., A. Cywinska, S. L. Ball, e J. R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcoding. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 313-322.
- Horta, P. A.; Amancio, E.; Coimbra, C. S. e Oliveira, E. C. 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28: 243-265.
- King, R. J., C. F. Puttock e R. S. Vickery. 1988. A taxonomic study on the *Bostrychia tenella* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 27: 10-19.
- King, R. J. e C. F. Puttock. 1989. Morphology and taxonomy of *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Aus. Syst. Bot.* 21:1-73.
- Milstein, D., A. S. Medeiros, E. C. Oliveira e M. C. Oliveira. 2011. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? *Journal of Applied Phycology* 23: 1-9.

Pedroche, F. F., J. A. West, G. C. Zuccarello, A. G. Senties e U. Karsten. 1995. Marine red algae of the mangroves in Southern Pacific México and Pacific Guatemala. *Bot. Mar.* 38: 111-119.

Post, E. 1936. Systematische und pflanzengeographische Notizen zur Bostrychia-Caloglossa Assoziation. *Rev. Algo.* 9: 1-84.

Post, E. 1939. Weitere daten zur webreitung des Bostrychietum III. *Archive für Protistenkunde* 93: 6-37.

Presting, G. G. 2006. Identification of conserved regions in the plastid genome implications for DNA barcoding and biological function. *Can. J. Bot.* 84:1434-43.

Provan, J., S. Murphy e C. A. Maggs. 2004. Universal plastid primers for Chlorophyta and Rhodophyta. *Eur. J. Phycol.* 39:43-50.

Saunders, G. W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future application. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 360:1879-88.

Saunders, G. W. 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic diversity. 1. The foliose *Dilsea-Neodilsea* complex and *Weeksia*. *Botany* 86:773-789.

Saitou, N. e M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Bio. and Evo.* 4:406-425.

Sherwood, A. R. e G. G. Presting. 2007. Universal primers amplify 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. *J. Phycol.* 43: 605-608.

Stiller, J. W. e A. McClanahan. 2005. Phyto-specific 16S rDNA PCR primers for recovering algal and plant sequences from mixed samples. *Mol. Ecol. Not.* 5:1-3.

Swofford, D. L. 2000. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tamura K. e M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molec. Bio. and Evol.* 10: 512-26.

West, J, G. C. Zuccarello, M. Hommersand, U. Karsten e S. Gors. 2006. Observation on *Bostrychia radicata* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta) *Phycol. Res.* 54: 1–14.

Zuccarello, G. C. e J. A. West. 2006. Molecular phylogeny of the subfamily Bostrychioideae (ceramiales, rhodophyta): subsuming *Stictosiphonia* and highlighting polyphyly in species of *Bostrychia*. *Phycologia* 45 (1): 24–36.

Zuccarello, G. C. e J. A. West. 2003. A. Multiple cryptic species: molecular diversity and reproductive isolation in the *Bostrychia radicans/Bostrychia moritziana* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) with focus on North American isolates. *J. Phycol.* 39: 948–959.

Zuccarello, G. C. & J. A. West. 2002. Phylogeography of the *Bostrychia calliptera-B. pinnata* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) and divergence rates based on nuclear, mitochondrial and plastid DNA markers. *Phycologia* 41 (1): 49–60.

Zuccarello, G. C. et al. 2011. Genetic diversity of the mangrove-associated alga *Bostrychia radicans/ Bostrychia moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta) from southern Central America. *Phycological Research* 59: 98–104.

Zuccarello, G. C., J. A. West e R. J. King. 1999. Evolutionary divergence in the *Bostrychia moritziana/B. Radicans* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta): molecular and hybridization data. *Phycologia* 38: 234–44.

Zuccarello, G. C. e J. A. West. 1997. Hybridization studies in *Bostrychia*. 2. Correlation of crossing data and plastid DNA sequence data within *B. radicans* and *B. moritziana* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 36: 293–304.

Documentos Suplementares

Lista de Figuras

Fig. 1. Mapa das estações de coleta e suas respectivas amostras coletadas para estudos moleculares.

Fig. 2. Topologia Neighbour Joining para o UPA das amostras (numeradas conforme a Tabela 1) dos representantes do gênero *Bostrychia* Montagne coletados em diversas áreas de manguezais da costa brasileira. Os números nos ramos se referem aos valores de Bootstrap (2000 replicatas).

Fig. 3. Topologia Neighbour Joining para o *cox1* das amostras dos representantes do gênero *Bostrychia* Montagne coletados em diversas áreas de manguezais da costa brasileira. Os números nos ramos se referem aos valores de Bootstrap (2000 replicatas).

Fig. 4. Topologia Neighbour Joining para o *rbcL* das amostras dos representantes do gênero *Bostrychia* Mont. e coletados em diversas áreas de manguezais da costa brasileira. Os números nos ramos se referem aos valores de Bootstrap (2000 replicatas) para NJ e entre parênteses para máxima parcimônia.

Figura 1



Legenda

- ▶ *B. calliptera*
- ▼ *B. montagnei*
- *B. moritziana*
- *B. pilulifera*
- *B. radicans*
- *B. tenella*

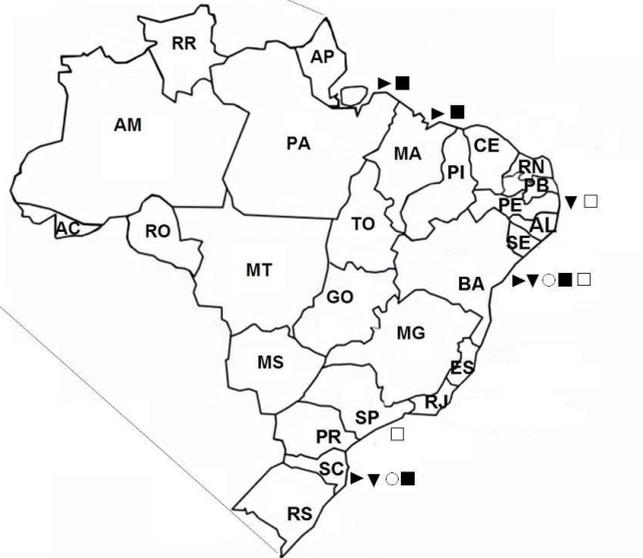


Figura 2

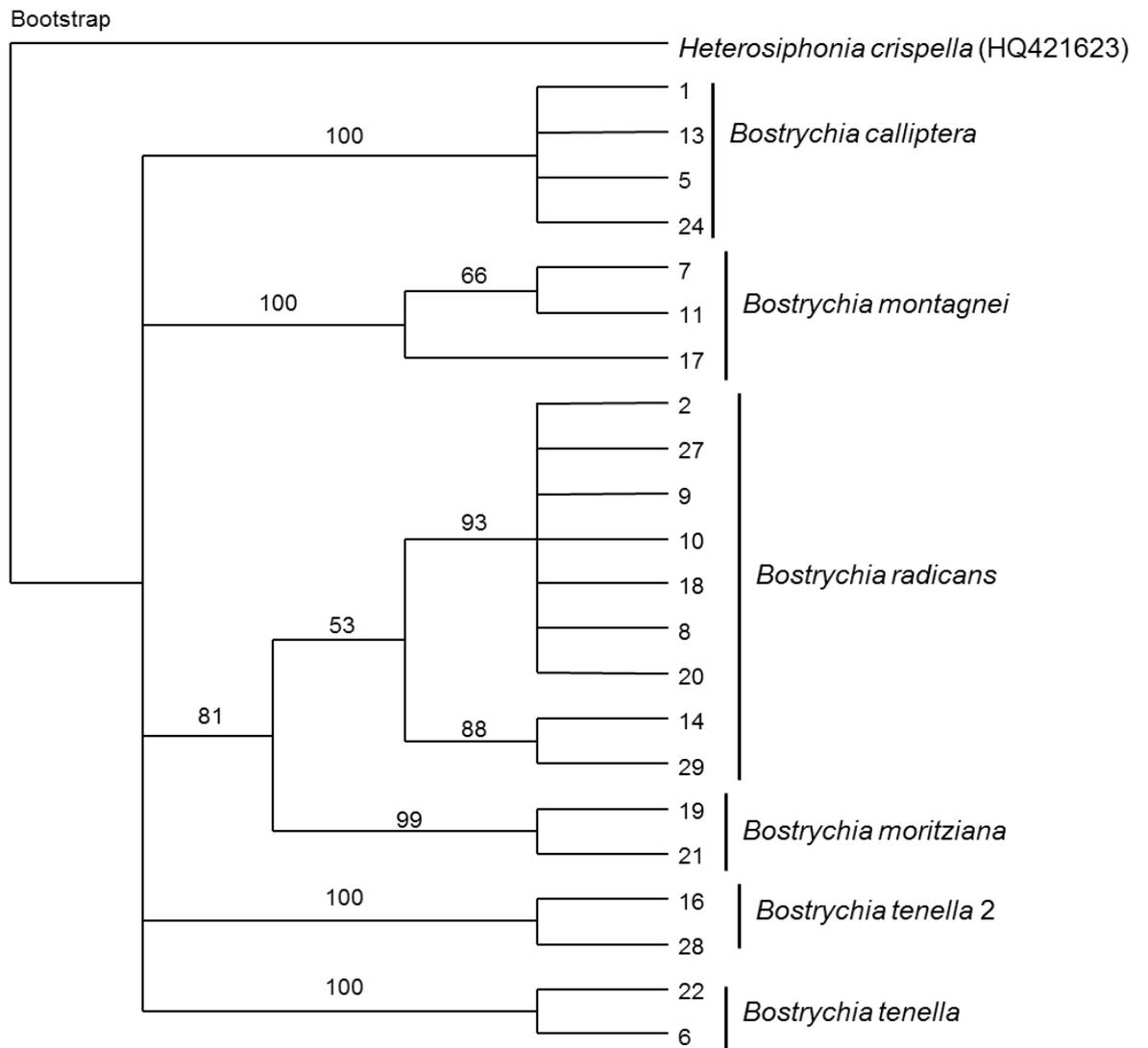
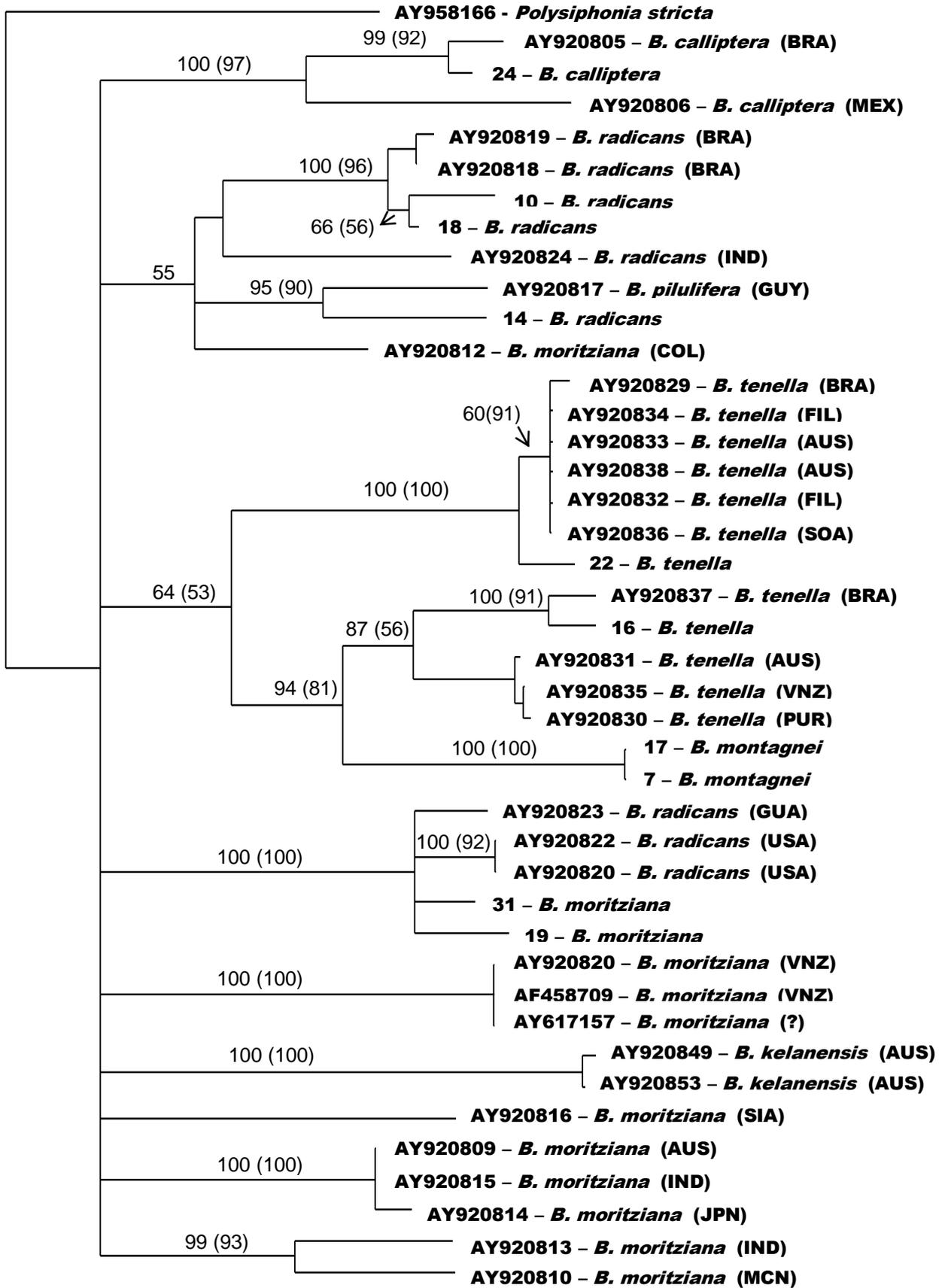


Figura 4



0.01 substitutions/site

TABELA 1. Representantes do gênero *Bostrychia* Mon. coletados em diversas áreas de manguezais da costa brasileira analisados neste trabalho.

Amostra	Taxon	Local de coleta	Data	Coletor	Voucher NCBI		
					UPA	cox1	rbcl
1	<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.	Bragança, PA (0°50'42.08"S; 46°38'51.08"O)	13/4/2009	Khey Fontes	*	*	-
2	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Bragança, PA (0°50'42.08"S; 46°38'51.08"O)	14/4/2009	Khey Fontes	*	-	-
5	<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.	Vila Velha-Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/5/2009	Khey Fontes	*	-	-
6	<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Vila Velha-Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/5/2009	Khey Fontes	*	-	-
7	<i>Bostrychia montagnei</i> Harvey	Vila Velha-Itamaracá,PE (7°48'41.32"S; 34°51'25.83"O)	26/5/2009	Khey Fontes	*	*	*
8	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. In Orb.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	*	-
9	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	*	-
10	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Taperoá,BA (13°32'09.83"S; 39°05'31.56"O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	*	*
11	<i>Bostrychia montagnei</i> Harv.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	*	-
13	<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	-	-
14	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	-	*
16	<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	-	*
17	<i>Bostrychia montagnei</i> Harv.	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	4/11/2009	Khey Fontes	*	-	*
18	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	4/11/2009	Khey Fontes	*	-	*
19	<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	4/11/2009	Khey Fontes	*	-	*
20	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	4/11/2009	Khey Fontes	*	-	-
21	<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh	Florianópolis, SC (27°38'56.97"S; 48°31'22.70"O)	4/11/2009	Khey Fontes	*	*	-
22	<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Ilha do Cardoso, SP(25°09'20.9"S; 47°54'55.9"O)	1/6/2010	Natália Guimarães	*	*	*
24	<i>Bostrychia calliptera</i> (Mont.) Mont.	Parna Açú-São Luís,MA (2°35'35.00"S; 44°24'13.00"O)	8/9/2010	Cícero Silva	*	*	*
27	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Parna Açú-São Luís,MA (2°35'35.00"S; 44°24'13.00"O)	1/12/2010	Khey Fontes	*	-	-
28	<i>Bostrychia tenella</i> (J. V. Lamour.) J. Agardh.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	-	-
29	<i>Bostrychia radicans</i> (Mont.) Mont. in Orb.	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	*	-	-
31	<i>Bostrychia moritziana</i> (Sond. Ex Kutz.) J. Agardh	Galeão,BA (13°24'06.85"S; 39°02'10.85O)	21/8/2009	Khey Fontes	-	-	*

* sequência obtida; - sequência não obtida. Obs: numero de depósito no GenBank será incluído na tabela antes da publicação

TABELA 2. Matriz de identidade das sequências de UPA geradas através das amostras de representantes do gênero *Bostrychia* Mont. dos manguezais da costa brasileira. As amostras estão numeradas conforme a tabela 1 e HQ421623 é *Heterosiphonia crispela* usada como grupo externo na análise da Figura 2.

x	HQ421623	1	13	5	24	7	11	17	2	27	9	10	18	8	20	14	29	19	21	16	28	22	6	
HQ421623	ID																							
1	0,931	ID																						
13	0,931	1	ID																					
5	0,931	1	1	ID																				
24	0,931	1	1	1	ID																			
7	0,941	0,948	0,948	0,948	0,948	ID																		
11	0,941	0,948	0,948	0,948	0,948	1	ID																	
17	0,938	0,946	0,946	0,946	0,946	0,997	0,997	ID																
2	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	ID															
27	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	ID														
9	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	1	ID													
10	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	1	1	ID												
18	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	1	1	1	ID											
8	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	1	1	1	1	ID										
20	0,946	0,953	0,953	0,953	0,953	0,951	0,951	0,948	1	1	1	1	1	1	ID									
14	0,938	0,955	0,955	0,955	0,955	0,943	0,943	0,941	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	ID								
29	0,938	0,955	0,955	0,955	0,955	0,943	0,943	0,941	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	0,982	1	ID							
19	0,946	0,955	0,955	0,955	0,955	0,946	0,946	0,943	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,977	0,977	ID						
21	0,946	0,955	0,955	0,955	0,955	0,946	0,946	0,943	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,977	0,977	1	ID					
16	0,936	0,955	0,955	0,955	0,955	0,953	0,953	0,951	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,946	0,946	0,948	0,948	ID				
28	0,936	0,955	0,955	0,955	0,955	0,953	0,953	0,951	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,953	0,946	0,946	0,948	0,948	1	ID			
22	0,934	0,948	0,948	0,948	0,948	0,941	0,941	0,943	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,948	0,948	0,946	0,946	0,958	0,958	ID		
6	0,934	0,948	0,948	0,948	0,948	0,941	0,941	0,943	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,956	0,948	0,948	0,946	0,946	0,958	0,958	1	ID	

Tabela 3. Matriz de identidade vs. Número de nucleotídeos das sequências únicas de UPA geradas através das amostras de representantes do gênero *Bostrychia* Montagne dos manguezais da costa brasileira.

X	HQ421623	1	7	17	2	14	19	16	22
HQ421623 – <i>Herposiphonia crispella</i>	ID	27	23	24	21	24	21	25	26
1. <i>B. calliptera</i> – Bragança, PA	93,1	ID	21	22	19	18	18	18	21
7. <i>B. montagnei</i> – Itamaracá, PE	94,1	94,8	ID	1	20	22	22	19	24
17. <i>B. Montagnei</i> – Florianópolis, SC	93,8	94,6	99,7	ID	21	24	22	20	23
2. <i>B. radicans</i> – Bragança, PA	94,6	95,3	95,1	94,8	ID	7	8	19	18
14. <i>B. radicans</i> (II) – Galeão, PA	93,8	95,5	94,3	94,1	98,2	ID	9	22	21
19. <i>B. moritziana</i> – Florianópolis, SC	94,6	95,5	94,6	94,3	98	97,7	ID	21	22
16. <i>B. tenella</i> (II) – Galeão, BA	93,6	95,5	95,3	95,1	95,3	94,6	94,8	ID	17
22. <i>B. tenella</i> – Ilha do Cardoso, SP	93,4	94,8	94,1	94,3	95,6	94,8	94,6	95,8	ID

Tabela 4. Matriz de identidade das sequências geradas para a região *cox1* através das amostras de representantes do gênero *Bostrychia* Mont. dos manguezais da costa brasileira.

X	9	8	10	7	11	1	24	22	21
9. <i>B. radicans</i> - Galeão, BA	ID								
8. <i>B. radicans</i> - Galeão, BA	0,942	ID							
10. <i>B. radicans</i> - Taperoá, BA	0,938	0,984	ID						
7. <i>B. montagnei</i> - Itamaracá, PE	0,802	0,811	0,812	ID					
11. <i>B. montagnei</i> - Itamaracá, PE	0,802	0,811	0,812	1	ID				
1. <i>B. calliptera</i> - Bragança, PA	0,823	0,833	0,838	0,838	0,838	ID			
24. <i>B. calliptera</i> - Parna Açu, MA	0,825	0,835	0,839	0,836	0,836	0,995	ID		
22. <i>B. tenella</i> - Ilha do Cardoso, SP	0,807	0,819	0,821	0,877	0,877	0,826	0,828	ID	
21. <i>B. moritziana</i> - Florianópolis, SC	0,84	0,839	0,842	0,835	0,835	0,846	0,849	0,826	ID

Tabela 5. Matriz de identidade das sequências geradas para a região *rbcL* através das amostras de representantes do gênero *Bostrychia* Mont. dos manguezais da costa brasileira.

X	24	7	17	31	19	10	18	14	16	22
24. <i>B. calliptera</i> - Parna Açú, MA	ID									
7. <i>B. montagnei</i> - Itamaracá, PE	0,775	ID								
17. <i>B. montagnei</i> - Florianópolis, SC	0,802	0,941	ID							
31. <i>B. moritziana</i> - Galeão, BA	0,835	0,791	0,819	ID						
19. <i>B. moritziana</i> - Florianópolis, SC	0,827	0,785	0,812	0,983	ID					
10. <i>B. radicans</i> - Taperoá, BA	0,787	0,752	0,772	0,862	0,855	ID				
18. <i>B. radicans</i> - Florianópolis, SC	0,831	0,79	0,812	0,909	0,902	0,948	ID			
14. <i>B. radicans</i> - Galeão, BA	0,82	0,786	0,807	0,897	0,895	0,903	0,941	ID		
16. <i>B. tenella</i> - Galeão, BA	0,794	0,857	0,899	0,807	0,806	0,76	0,802	0,794	ID	
22. <i>B. tenella</i> - Ilha do Cardoso, SP	0,799	0,768	0,804	0,775	0,767	0,775	0,778	0,76	0,807	ID

6. Considerações Finais

Há ainda, muito o que se fazer para que se consiga esclarecer satisfatoriamente os problemas taxonômicos apresentados pelo gênero *Bostrychia*. Os esforços dos diversos especialistas envolvidos nesta tarefa refletem os avanços consideráveis alcançados ao longo do tempo e história do táxon. Alguns aspectos, a seguir comentados, são relevantes para um maior entendimento taxonômico.

O gênero *Bostrychia* sempre apresentou uma história taxonômica controversa desde sua descrição até os trabalhos mais recentes onde várias ferramentas importantes vem sendo utilizadas para a elucidação dos problemas observados. Sua estreita relação com o gênero *Stictosiphonia*, apesar de ter sido discutida de forma eficiente em várias abordagens, ainda suscita várias dúvidas. A existência de dois gêneros distintos baseados no número de camadas de células pericentraes para cada célula axial não se sustenta quando considerados os dados moleculares e de hibridação. A utilização de marcadores moleculares vem sendo de grande importância na busca por respostas a estas questões, pois o número de linhagens diferentes existentes nas variadas populações mundiais das espécies que compõem o gênero pode refletir em um grande número de casos de espécies crípticas a serem analisadas e resolvidas. Atualmente, o gênero *Stictosiphonia* vem sendo considerado um sinônimo do gênero *Bostrychia* com base principalmente nesses referidos dados moleculares.

A importância taxonômica de algumas características morfológicas necessita de maior atenção para que se esclareça as relações entre as espécies encontradas nos variados complexos dentro do gênero. Alguns marcadores morfológicos (tipo de hapteron, padrão de ramificação) são úteis para a separação entre táxons infragenéricos, enquanto que outros (ramos monossifônicos de última ordem, número de células pericentraes por célula axial) podem ser considerados como auxiliares. O tipo de hapteron foi o único critério que pode ser confirmado quando relacionados os dados morfológicos e moleculares. As espécies que desenvolvem peripherohapteron agruparam-se separadamente das espécies que desenvolvem cladohapteron. O alto valor taxonômico desta característica já vinha sendo considerado e demonstrado em várias abordagens e foi comprovado com nossos dados.

A delimitação taxonômica entre *B. radicans* e *B. moritziana* baseada, apenas, na presença/ausência de ramos monossifônicos de última ordem não garante ser um bom critério. Esta característica vem sendo extensivamente questionada devido à sua elevada

plasticidade. Alguns autores indicam que, sob determinadas condições, *B. radicans*, espécie que não apresenta os referidos ramos na natureza, pode desenvolvê-los completamente. Além disso, indivíduos de *B. moritziana* que apresentam origens diferentes, podem não apresentar capacidade de hibridação. Com relação aos dados observados neste trabalho, este critério apresentou um valor taxonômico auxiliar na delimitação entre as duas espécies.

Baseados nos dados morfológicos e moleculares, faz-se necessário a reconsideração de *B. binderi* como uma espécie diferente de *B. tenella*. A marcada variação morfológica em características como a extensão da polissifonia em ramos laterais e a forma e tamanho das células em ramos monossifônicos obteve convergência na variação observada nos diversos marcadores analisados. Indivíduos com morfologia de *B. binderi* apresentaram sequências diferentes quando comparados com indivíduos de *B. tenella*. Esta observação pode indicar que as variações morfológicas apresentadas pelas espécies, antes consideradas como plasticidade fenotípica, possam ser consideradas como um nível de diferença específico.

A análise de aspectos ecológicos, fisiológicos, químicos e moleculares é consideravelmente importante no auxílio à delimitação taxonômica dos representantes do gênero. Cada espécie apresenta respostas diferentes a variados estímulos. Alguns complexos existentes variam morfológicamente quando consideradas suas respectivas sazonalidade, portanto, algumas diferenças morfológicas sazonais devem ser entendidas para que não causem dificuldades na identificação precisa dos táxons que as apresentem. Ao se mostrarem eficientes, estas características poderão ser utilizadas como coauxiliares na taxonomia.

Os marcadores moleculares tem revelado informações importantes sobre a biogeografia e filogenia das espécies de *Bostrychia*. Várias linhagens vem sendo descobertas pelos estudiosos dentro de complexos específicos como em *B. radicans*/*B. moritziana*. Estas informações ainda obtiveram sucesso na delimitação específica de *B. flagelifera* como também de *B. radicata*. Os marcadores utilizados neste trabalho, permitiram a observação de duas linhagens diferentes de *B. radicans* já reconhecidas anteriormente por diversos autores além de indicar a separação e reconsideração de *B. binderi*. Contudo, nossas análises demonstraram que o gênero é bastante polimórfico em seu DNA. As variações intraespecífica e interespecífica revelaram-se maiores em número de nucleotídeos quando comparadas com outros gêneros relacionados. Faz-se,

com isso, a necessidade de se desenhar primers específicos para o gênero principalmente para marcadores como o *rbcL*, pois assim, melhor delimitados especificamente os representantes serão.

A dificuldade logística, bem como a disponibilidade temporal, foram determinantes para que cada estação de coleta fosse visitada apenas uma vez ao longo do período de estudo. Acreditamos que este fato dificultou, assim, a possibilidade de se coletar um número maior de espécies de *Bostrychia* em cada área. O esforço amostral precisa ser efetivamente maior, pois a distribuição do gênero se tornará mais claramente conhecida e espécies como *B. pilulifera*, com registros de ocorrência apenas para manguezais da costa norte brasileira, possa revelar sua distribuição um pouco mais ampla nos manguezais brasileiros. O fato de todas as espécies não serem coletadas em todas as áreas não quer dizer que estas mesmas espécies não ocorram nas determinadas estações, pois várias abordagens realizadas não só em manguezais brasileiros, mas também em outras áreas de manguezais tropicais observaram que vários representantes do referido gênero apresentam variação sazonal marcante, podendo se tornar abundante em uma estação do ano e extremamente rara em outra.