

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

EDUARDO ANTONIO TUSSET ARAUJO

**DIATOMÁCEAS DA FORMAÇÃO CÁRSTICA DA SERRA DA BODOQUENA (MATO
GROSSO DO SUL, BRASIL)**

Porto Alegre
2023

EDUARDO ANTONIO TUSSET ARAUJO

**DIATOMÁCEAS DA FORMAÇÃO CÁRSTICA DA SERRA DA BODOQUENA (MATO
GROSSO DO SUL, BRASIL)**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Botânica.

Orientadora: Dra. Luciana de Souza Cardoso

Coorientadora: Dra. Thelma Alvim Veiga Ludwig

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Araujo, Eduardo Antonio Tuset
Diatomáceas da formação cárstica da Serra da
Bodoquena (Mato Grosso do Sul, Brasil) / Eduardo
Antonio Tuset Araujo. -- 2023.
134 f.
Orientador: Luciana de Souza Cardoso.

Coorientador: Thelma Alvim Veiga Ludwig.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de
Pós-Graduação em Botânica, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Ficologia. 2. Taxonomia. 3. Algas. 4. New
species. 5. Diatomáceas. I. Cardoso, Luciana de Souza,
orient. II. Ludwig, Thelma Alvim Veiga, coorient.
III. Título.

EDUARDO ANTONIO TUSSET ARAUJO

DIATOMÁCEAS DA FORMAÇÃO CÁRSTICA DA SERRA DA BODOQUENA (MATO GROSSO DO SUL, BRASIL)

Tese aprovada pela banca examinadora para obtenção do Título de Doutor em Botânica no Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.^a Dra. **Luciana de Souza Cardoso**
Departamento de Botânica (DEBOT/UFRGS)

Coorientadora: Prof.^a Dra. **Thelma Alvim Veiga Ludwig**
Departamento de Botânica (DEBOT/UFPR)

Prof.^a Dra. **Lezilda Carvalho Torgan**
Departamento de Botânica (DEBOT/UFRGS) - Examinadora Interno

Prof.^a Dra. **Andreia Cavalcante Pereira**
Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas (ICTA/UFOPA) - Examinadora Externo

Prof.^a Dra. **Dávia Marciana Talgatti**
Campus Oriximiná (CORI/UFOPA) - Examinadora Externo

Prof.^a Dra. **Marinês Garcia**
Departamento de Botânica (DEBOT/UFRGS) - Suplente

Prof.^a Dra. **Denise Matias de Faria**
Departamento de Ecologia e Conservação (DEBOT/UFPR) – Suplente

Porto Alegre, 31 de março de 2023.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, aos laboratórios de Ficologia das duas universidades, por fornecerem a infraestrutura necessária, dispendo de equipamentos e literatura para realização deste trabalho. O presente trabalho foi realizado com apoio tanto do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo: 141696/2019-2, com bolsa concedida durante o período de doutorado e subsídio para as expedições de coleta, bem como da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Aos proprietários das Fazendas Rio da Prata, Estância Mimosa, Boca da Onça, Sítio Ybirá Pe, Parque Ecológico Rio Formoso, Praia da Figueira, Nascente Azul, Rio Sucuri, ao ICMbio e ao IAMASUL por conduzirem e possibilitarem a coleta no Parque Nacional da Serra da Bodoquena.

À Dra. Luciana de Souza Cardoso pela oportunidade de realizar esse trabalho, profissionalismo, ensinamentos, orientação, amizade, paciência e preocupação com meu bem-estar ao longo destes quatro anos.

À Dra. Thelma Alvim Veiga Ludwig por aceitar realizar a coorientação, me acolher no laboratório de Ficologia da Universidade Federal do Paraná, repassar conhecimentos, ensinamentos e amizade ao longo dos anos.

À Dra. Lezilda Carvalho Torgan, pelo apoio, conversas motivadoras e por compartilhar seu conhecimento durante minha formação. Aos professores Dr. João Fernando Prado e Dra. Marinês Garcia pela oportunidade de compartilhar momentos e ensinamentos, durante os estágios de docência. À Dra. Priscila Tremarin, por sua amizade, compartilhamento de conhecimento, correções e auxílio na elaboração de manuscritos como coautora. Ao Dr. Kaoli Pereira Cavalcante, por auxiliar na elaboração e estruturação do manuscrito com suas correções durante a qualificação. Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná pela disponibilidade dos seus equipamentos. Aos coautores dos artigos gerados a partir desta tese, os quais contribuíram com o seu conhecimento também para o meu crescimento.

Aos membros da banca, Lezilda Carvalho Torgan, Andreia Cavalcante Pereira, Dávia Marciana Talgatti, Marinês Garcia e Denise Matias de Faria por aceitarem o convite para avaliação deste trabalho e pelas valiosas contribuições. Levarei para sempre os exemplos profissionais e pessoais que recebi.

A minha família, meu avô Lourenço Tusset que infelizmente, não se encontra neste plano espiritual, minha mãe Josilde Tusset, minha incentivadora, fortaleza. Ao meu pai Nelson e meus irmãos, Mônica Patrícia Tusset e Pedro Henrique Tusset, ao meu amigo Jonas Paulo amo vocês.

À Roberta Pereira, minha amada, companheira, pelo apoio na concretização deste sonho, auxílio durante as duas coletas, paciência durante o período de escrita destes manuscritos e ao longo de todo esse processo. Sem dúvida, estamos ainda mais fortalecidos!

Aos amigos, os quais tive o prazer de conhecer na UFRGS, compartilhar momentos, Denílson Machado, Gustavo, Mauricio, Daniela Casali, Razzi, Igor, Calebe, Anderson, Martim, Mônica, Bárbara, Ruan, às psicólogas Ana Paula, Gisele, Daniela Ribeiro, Paula, Maria Gabrielle. Aos amigos de longa data Vinícius Lima, Rodrigo, Sérgio e todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“O essencial é invisível aos olhos”

Antoine de Saint Exupéry

RESUMO

No Brasil são conhecidas 19 áreas cársticas, que representam cerca de 6% do território nacional. A Serra da Bodoquena, no estado do Mato Grosso do Sul, encontra-se inserida em uma importante formação cárstica Brasileira, na qual os corpos d'água da região diferem das demais áreas por apresentarem precipitação contínua de carbonato, ocasionando a formação de tufas calcáreas e barragens naturais, excelentes substratos para as diatomáceas. Estudos morfológicos e taxonômicos das diatomáceas em ambientes cársticos concentram-se nos continentes Europeu e Asiático, resultando em floras com elevada riqueza de espécies e novas propostas para a ciência. Em contraste, os estudos com diatomáceas de ambientes cársticos brasileiros são escassos. Face à carência de informações sobre a composição taxonômica das diatomáceas da região centro-oeste do Brasil e do estado do Mato Grosso do Sul, este estudo, realizado na Serra da Bodoquena, vem sanar algumas lacunas. A proposta desta tese é apresentar os resultados na forma de quatro artigos que estão relacionados a distribuição, informações ecológicas, análises morfológicas e taxonômicas das diatomáceas realizadas em microscopia de luz e eletrônica de transmissão e varredura. O capítulo 1 compreende o estudo florístico sobre diatomáceas de ambientes cársticos da Serra da Bodoquena em Mato Grosso do Sul. Vinte e dois ambientes foram amostrados em expedições realizadas em 2015 e 2019, que resultaram em 59 amostras, com 171 táxons pertencentes a 54 gêneros e 24 famílias, sendo que 96% das espécies identificadas são citadas pela primeira vez ocorrendo no estado do Mato Grosso do Sul. As famílias com maior riqueza de espécies ou variedades foram Gomphonemataceae (19), Naviculaceae (18), Achnanthidiaceae (17), Sellaphoraceae (13), Cymbellaceae (13), Fragilariaceae (12), Bacillariaceae (12), Stauroneidaceae (11) e Surirellaceae (9). As diatomáceas que ocorreram com alta frequência (5,2%, 9 táxons) foram: *Nitzschia amphibia*, *Achnanthidium saprophilum*, *Navicula cryptotenella*, *Achnanthidium straubianum*, *Achnanthidium minutissimum*, *Platessa hustedtii*, *Cocconeis placentula* var. *euglypta*, *Gomphonema pumilum* e *Planothidium rostratum*. Em termos de distribuição dos táxons, 12 foram frequentes (7%), 66 com baixa frequência (38,5%) e a grande maioria com 84 foram esporádicas (49,1%). O número total de espécies variou de acordo com o ambiente e substrato de adesão. Em geral, os rios apresentaram maior riqueza, onde no epífiton variaram de 21 a 45 táxons. A maior riqueza ocorreu no Rio Formoso com 45 espécies, sendo que no epipsamon variou de 26 a 39, e no epilíton de 21 a 40 táxons. O capítulo 2 refere-se ao estudo do gênero *Dorofeyukea*, gênero caracterizado por uma fásia estreita delimitada pelo encurtamento de estrias na região central, estrias unisseriadas levemente radiadas, formato isodiamétrico das aréolas, ocluídas internamente por hímenes e pseudosepto. Quatro espécies novas para a ciência foram propostas e aceitas: *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., *D. bodoquenensis* sp. nov., *D. calcarea* sp. nov., e *D. pantanalensis* sp. nov. *Dorofeyukea kotschy* e *D. texana* foram registradas pela primeira vez, ocorrendo no estado do Mato Grosso do Sul e *D. texana* foi o primeiro registro para o Brasil. Este manuscrito foi apresentado durante a qualificação em dezembro de 2021. O capítulo 3 relata o estudo do gênero *Simonsenia*, caracterizado pelo sistema de rafe que se abre em um canal longitudinal sobre uma quilha marginal, e pequenas aréolas circulares, ocluídas por hímenes. Este é um gênero com taxonomia complexa, pela delicadeza das frústulas, tamanho diminuto e pela necessidade do uso de microscopia eletrônica para visualizar os caracteres diagnósticos do grupo. Novas espécies de *Simonsenia* vem sendo descritas que ocorrem exclusivamente em água doce, salobra ou ainda salgada. *Simonsenia bodoquenensis* sp. nov. foi descrita e comparada com outras espécies do gênero e ocorreu em água doce no epífiton e no epilíton do carste da Serra da Bodoquena. O capítulo 4 trata-se da proposição de uma espécie nova de *Fragilaria* que ainda está sendo discutida com especialistas (David Williams, Bart Van de Vijver), podendo resultar numa co-autoria com os mesmos. O fato de formar colônias em forma de fitas, nos ápices possuir uma rimoportula por valva, estrias alternadas, espinhos marginais, campo de poros apicais pouco desenvolvido e fileira única de aréolas não ocluídas nas bandas intercalares foram caracteres utilizados durante a diagnósticos do gênero *Fragilaria*, entretanto esse táxon apresenta bandas fechadas, surgindo assim a necessidade de investigar a real identidade desta espécie, uma vez que esta seria uma das característica descritas na diagnose do gênero *Ulnaria*.

Palavras chaves: Bacillariophyta, água doce, carste, novas espécies, América do Sul, taxonomia, pantanal.

ABSTRACT

In Brazil, 19 karst areas are known, which represent about 6% of the national territory. The Serra da Bodoquena, in the state of Mato Grosso do Sul, is located in an important Brazilian karst formation, in which the water bodies in the region differ from other areas in that they present continuous precipitation of carbonate, causing the formation of calcareous tufas and natural dams, excellent substrates for diatoms. Morphological and taxonomic studies of diatoms in karst environments are concentrated in the European and Asian continents, generated in floras with high species richness and new proposals for science. In contrast, studies with diatoms from Brazilian karst environments are scarce. Given the lack of information on the taxonomic composition of diatoms in the central-west region of Brazil and in the state of Mato Grosso do Sul, this study, carried out in Serra da Bodoquena, comes to fill some gaps. The purpose of this thesis is to present the results in the form of four works that are related to distribution, ecological information, morphological and taxonomic analysis of diatoms performed in light and transmission and scanning electron microscopy. Chapter 1 comprises a floristic study on diatoms from karst environments in Serra da Bodoquena in Mato Grosso do Sul. Twenty-two environments were sampled in expeditions carried out in 2015 and 2019, which resulted in 59 samples, with 171 taxa belonging to 54 genera and 24 families, and 96% of the identified species are cited for the first time heard in the state of Mato Grosso do Sul. The families with the highest species or variety richness were Gomphonemataceae (19), Naviculaceae (18), Achnanthidiaceae (17), Sellaphoraceae (13), Cymbellaceae (13), Fragilariaceae (12), Bacillariaceae (12), Stauroneidaceae (11) and Surirellaceae (9). The diatoms that occurred with high frequency (5.2%, 9 taxa) were: *Nitzschia amphibia*, *Achnanthidium saprophilum*, *Navicula cryptotenella*, *Achnanthidium straubianum*, *Achnanthidium minutissimum*, *Platessa hustedtii*, *Cocconeis placentula* var. *euglypta*, *Gomphonema pumilum* and *Planothidium rostratum*. In terms of taxa distribution, 12 were frequent (7%), 66 with low frequency (38.5%) and the vast majority with 84 were sporadic (49.1%). The total number of species varies depending on the environment and adhesion substrates. In general, the rivers presented greater richness, in the epiphyton they ranged from 21 to 45 taxa. The greatest richness occurred in the Formoso river with 45 species, with epipsamon ranging from 26 to 39, and epilithon from 21 to 40 taxa. Chapter 2 refers to the study of the genus *Dorofeyukea*, a genus characterized by a narrow fascia delimited by the shortening of striae in the central region, uniseriate striae slightly radiating, isodiametric shape of the areolas, internally occluded by hymens and pseudoseptum. Four species new to science were proposed and accepted: *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., *D. bodoquenensis* sp. nov., *D. calcarea* sp. nov., and *D. pantanalensis* sp. nov. *Dorofeyukea kotschy* and *D. texana* were recorded for the first time, occurring in the state of Mato Grosso do Sul and *D. texana* was the first record for Brazil. This manuscript was submitted during qualification in December 2021. Chapter 3 reports the study of the genus *Simonsenia*, characterized by the raphe system that opens into a longitudinal channel over a marginal keel, and small circular areolas, occluded by hymens. This is a genus with complex taxonomy, due to the delicacy of the frustules, small size and the need to use electronic microscopy to visualize the diagnostic characters of the group. New species of *Simonsenia* have been described that occur exclusively in fresh, brackish or even salt water. *Simonsenia bodoquenensis* sp. nov. was observed and observed with other species of the genus and occurred in fresh water in the epiphyton and epilithon of the Serra da Bodoquena karst. Chapter 4 deals with the proposition of a new species of *Fragilaria* that is still being supported by specialists (David Williams, Bart Van de Vijver), which may result in a co-authorship with them. The fact that it forms colonies in the form of ribbons, at the apices having one rimoportula per valve, alternate striae, marginal spines, a poorly developed apical pore field and a single set of non-occluded areoles in the intercalary bands were characters used during the diagnoses of the genus *Fragilaria*, however, this taxon is believed to present closed bands, thus arising the need to investigate the real identity of this species, since this would be one of the characteristics described in the diagnosis of the genus *Ulnaria*.

Key words: Bacillariophyta, freshwater, karst, new species, South America, taxonomy, wetland.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
Formações cársticas	11
Diatomáceas em ambientes cársticos	13
Referências	15
Estrutura da tese	20
Capítulo 1. Diatom flora in karst environments in the Brazilian Pantanal	22
Capítulo 2. The genus <i>Dorofeyukea</i> (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species.....	23
Capítulo 3. Three new <i>Simonsenia</i> species (Bacillariophyta) from Brazil.....	42
Capítulo 4. <i>Fragilaria brasiliensis</i> sp. nov., a new diatom (Bacillariophyta) species from karstic formation in Brazil	43
Considerações finais	44

INTRODUÇÃO

As diatomáceas são algas cuja característica principal é parede celular constituída de sílica, a frústula, nela são apresentadas estrutura e as ornamentações utilizadas como base na taxonomia do grupo (van den Hoek *et al.* 1995). Tradicionalmente foram classificadas em cêntricas e penadas baseadas na simetria valvar. A utilização da microscopia eletrônica e análises moleculares, nas últimas décadas, contribuíram significativamente para novas propostas de sistema de classificação, redefinição de gêneros e complexos de espécies, anteriormente definidos com base em microscopia óptica (Round *et al.* 1990, Mann *et al.* 2008, Theriot *et al.* 2010). Do ponto de vista taxonômico, as diatomáceas constituem um grupo de espécies extremamente complexo e numeroso representado atualmente por 250 gêneros (Graham & Willcox 2000, Guiry & Guiry 2022). Estudos moleculares aliados à morfológicos resultaram na proposta de sistema de classificação com a divisão Bacillariophyta: classes Coscinodiscophyceae Round & Crawford emend. Medlin & Kaczmarska, Mediophyceae (Jousé & Proshkina-Lavrenko) Medlin & Kaczmarska e Bacillariophyceae Haeckel emend. Medlin & Kaczmarska (Medlin 2016).

Diatomáceas são comuns no plâncton e no perifíton da maioria dos ambientes aquáticos. Podem viver livres ou aderidas a substratos. As estruturas morfológicas de adesão são estratégias que facilitam a colonização dos substratos (Round *et al.* 1990). Devido a características das frústulas, apresentam resistência a distúrbios físicos da água e melhor posicionamento para obtenção de recursos (luz e nutrientes). As diatomáceas com rafe podem deslizar sobre o substrato e as que apresentam campo de poros apicais ou rimopórtula são capazes de se fixar ao substrato por liberação de mucilagem (Round *et al.* 1990), estratégia que lhes confere vantagens adaptativas (Lowe 1996).

As comunidades perifíticas recebem denominações específicas de acordo com o substrato ao qual estão aderidas, quando crescem sobre vegetais (epifíton), sobre rochas (epilíton), sobre grãos de areia (epipsamon) ou sedimento (epipelon) (Round *et al.* 1990). Espécies ou associações de diatomáceas podem ser seletivas e ocorrerem em ambientes com características específicas, mostrando preferências ambientais. Comunidades de diatomáceas perifíticas são utilizadas em estudos de bioindicação, por responderem prontamente a mudanças ambientais (Sládecková 1962, Wetzel 1983, Lowe 1996, Heinrich *et al.* 2014). Estas algas exibem padrões diferenciados de tolerância, não só das condições químicas da água, como das físicas e das hidrológicas do sistema. Portanto, são utilizadas frequentemente em avaliações e monitoramentos como indicadoras de pH, concentração de nutrientes, salinidade, regime hidrológico e de diferentes tipos de distúrbios antrópicos, poluentes, agrotóxicos e metais pesados (Stevenson 1996; Stoermer & Smol 1999).

Formações cársticas

As formações cársticas são únicas em termos de características ambientais e ecológicas e são mais comumente formadas em rochas carbonáticas solúveis em água (Kovacic & Ravbar 2013). Grande interesse econômico e hidrológico caracteriza este ambiente por sua riqueza em recursos naturais, como reservas subterrâneas, água de alta qualidade, biodiversidade rica e peculiar, além de potencial ecoturístico (Feitosa 2008, Pisano *et al.* 2022). Em contraste, as regiões cársticas representam uma das áreas mais ameaçadas do mundo devido a processos naturais e ações humanas como urbanização ou intensificação da agricultura (Hartmann *et al.* 2014). Eles são caracterizados por condições morfológicas e hidrológicas desenvolvidas na superfície ou no subsolo (Fabri *et al.* 2014).

A classificação inicial do carste brasileiro foi realizada na década de 1970, elaborada a partir da distribuição de rochas carbonáticas, que identificaram cinco províncias espeleológicas: Vale do Ribeira, Bambuí, Serra da Bodoquena, Alto Rio Paraguai e Chapada de Ibiapaba, além de outras nove áreas com fenômenos cársticos mais restritos (Karmann & Sánchez 1979).

Atualmente são conhecidas 19 áreas cársticas brasileiras (Fig. 1), algumas dessas áreas com propostas de criação de geoparques com objetivos ligados à conservação, educação e pesquisa científica (Schobbenhaus & Silva 2012). Uma dessas áreas é a do Parque Nacional Parna Serra da Bodoquena, uma Unidade de Conservação Federal na categoria de proteção integral criada em 2000, no estado de Mato Grosso do Sul, com o objetivo de proteger o maior trecho de Mata Atlântica do estado, além das características geológicas e biológicas específicas da região e valiosas reservas de água (Barros & Garcia 2014). No município de Bodoquena encontra-se na porção mais elevada da Serra da Bodoquena na região, atuando como uma área de recarga hídrica, responsável pela dinâmica hidrológica regional (Dias 2000).

Definições geológicas recentes evitam ligar o termo carste a rochas carbonáticas ou a uma litologia específica, pelo fato que outras rochas podem sofrer dissolução (Hardt 2003). Estes ambientes cársticos são representados por carbonatos pré-cambrianos, submetidos à influência de clima sazonal, precipitações formando feições cársticas conhecidas como dolinas, cavernas, sumidouros, ressurgências e vales. Estima-se que as áreas cársticas no mundo correspondem de 10 a 15% da superfície terrestre, e no Brasil elas representam cerca de 6 % do território nacional (Silva *et al.* 2013). No carste da Serra da Bodoquena há cerca de 200 cavernas e grutas catalogadas e feições peculiares de ambiente cárstico, como sumidouros, ressurgências e inúmeras dolinas, como o Abismo das Anhumas, e o Buraco das Araras (Ford & Williams 2007, Sallun-Filho *et al.* 2009, Karmann & Lobo 2010). O carste encontrado na Serra da Bodoquena encontra-se numa fase de desenvolvimento inicial, quando comparado com outras regiões do mundo. Este fato pode ser observado quando

analisados os padrões de drenagem que predominam superficialmente. Em formações cársticas mais desenvolvidas a drenagem superficial tende a desaparecer por completo, passando a ser predominantemente subterrânea (Dias 2000).

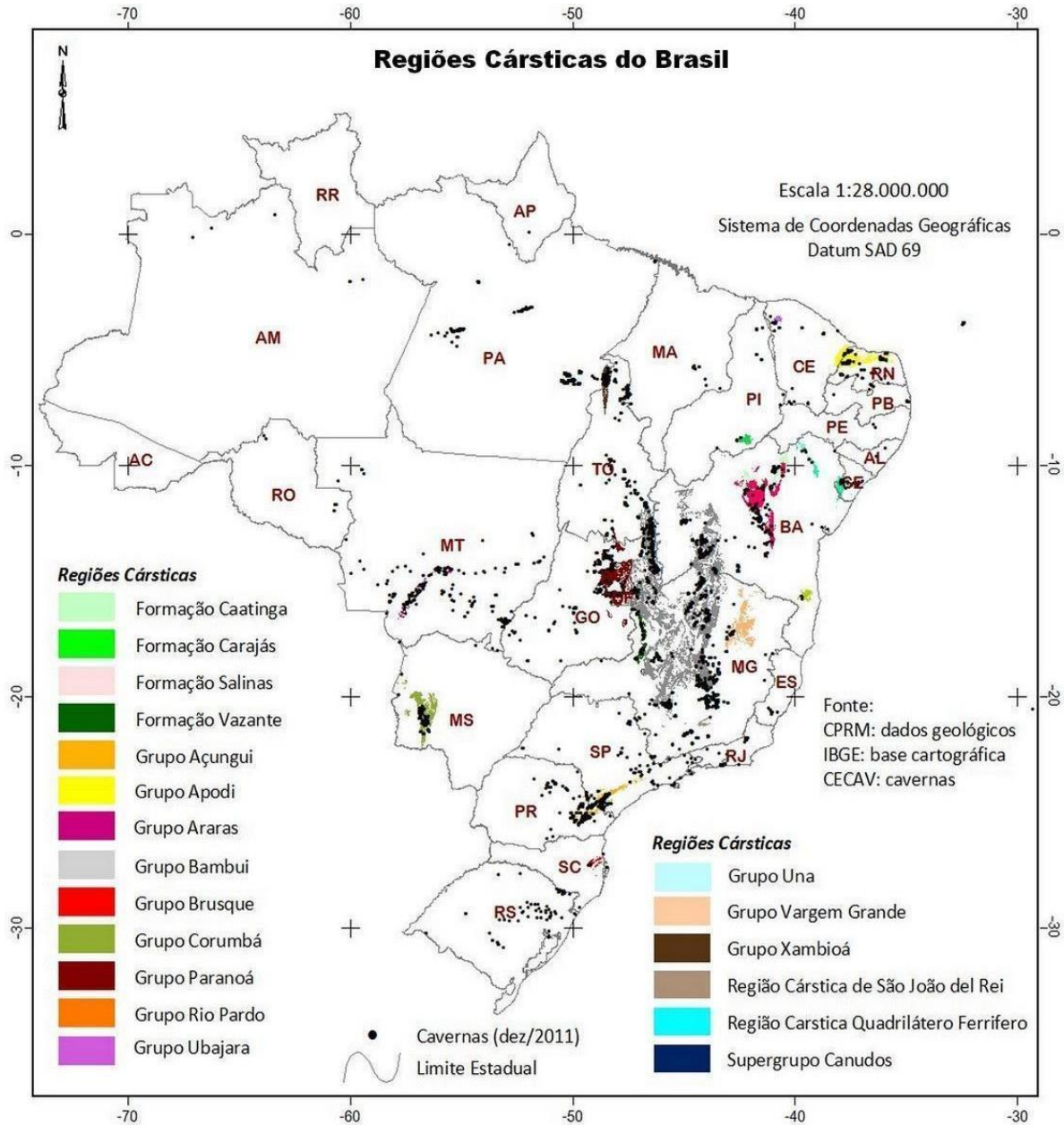


Figura 1 Mapa de áreas cársticas do Brasil e detalhes da área de estudo, Grupo Corumbá, no estado do Mato Grosso do Sul. Fonte: ICMBio (2019).

Diatomáceas em ambientes cársticos

Ambientes aquáticos cársticos foram pouco estudados no Brasil e no mundo, particularmente em relação às diatomáceas. Quando observados em escala global, os trabalhos se concentram nos continentes Asiático e Europeu. No continente Asiático, nas formações cársticas de água doce na Reserva Natural de Maolan (China), ocorreram várias proposições de novas espécies: *Simonsenia maolaniana*, com o nome da espécie homenageando a reserva e ocorrendo em hábito bentônico (You *et al.* 2016), uma nova espécie de *Eunotia* Ehrenberg foi descrita *E. sudeticiformis* (Kociolek *et al.* 2016b), ainda três espécies de *Achnantheidium* em hábito subaéreo foram descritos nesta mesma reserva (You *et al.* 2019a), uma espécie de *Achnanthes* Bory (You *et al.* 2019b), e uma espécie de *Sellaphora* Mereschkowsky (You *et al.* 2017). Ainda há na Reserva Maolan a descrição de um novo gênero *Edtheriotia* Kociolek, You, Stepanek, R.L. Lowe & Q-X. Wang (Kociolek *et al.* 2016a). E estudos florísticos originários de ambientes cársticos no sul da China (Wang *et al.* 2009, Li 2013). A diversidade do gênero *Humidophila* Lowe, Kociolek, Johansen, Van de Vijver, Lange-Bertalot & Kopalová, no carste de Guizhou China, resultou na descrição de oito novas espécies deste gênero (Lowe *et al.* 2017).

A flora de diatomáceas em ambientes cársticos foi realizada em estudos de Jasprica & Hafner (2005), Hafner & Jasprica (2013) e Udovič *et al.* (2022) realizados na Croácia. O primeiro contemplou a amostragem em três lagoas, resultando em 137 táxons de diatomáceas, distribuídos em 41 gêneros. O segundo apresentou a composição de diatomáceas epifíticas em carofíceas de ecossistemas cársticos dinâmicos, resultando em 91 táxons determinados, sendo *Gomphonema* Ehrenberger e *Navicula* Bory os gêneros com maior riqueza específica. No terceiro é realizado uma nova combinação no gênero *Cymbopleura* (Krammer) Krammer, uma espécie rara com poucos registros ocorrendo associada a tufas calcárias.

Diatomáceas epilíticas em nascentes da Ilha de Majorca, região com geologia cárstica na Espanha, foram analisadas por Delgado *et al.* (2013), resultando em proposta de duas novas espécies e registros de ocorrência de 111 táxons. No carste italiano da Sardinia Lai *et al.* (2016) registram a ocorrência de 89 diatomáceas epilíticas em rios com características oligotróficas. A flora de diatomáceas do carste no Mediterraneo totalizou 176 espécies, sendo que os gêneros mais comuns foram *Gomphonema* Ehrenberg, *Nitzschia* Hassall, *Navicula* Bory e *Achnantheidium* Kützing (Lai *et al.* 2019).

No continente americano, o estudo das diatomáceas fósseis realizado no lago Mono, na Califórnia, relata a dominância de quatro espécies *Anomoeoneis costata* (Kützing) Hustedt, *Surirella utahensis* (Grunow) Hanna & Grant, *Cyclotella bodanica* Eulenstein ex Grunow e *Surirella testudo* (Ehrenberg) Kützing (Solladay 1994). Ainda neste ambiente existe o relato da ocorrência de formas

teratológicas das frústulas das diatomáceas (Stine 1990). A flora de diatomáceas bentônicas no lago Mono registrou a ocorrência de 30 táxons (Kociolek & Herbst 1992). Na Flórida, *Fragilaria synegrotasca* Lange-Bertalot foi descrita em uma formação calcária em amostras perifíticas, ocorrendo no epilítion e epifítion (Lange-Bertalot 1993).

O estudo florístico no México resultou na identificação de 156 táxons, sendo 29 de ocorrência tropical (Novelo *et al.* 2007), e a diversidade das comunidades de diatomáceas no metafítion e perifítion foram analisados na zona úmida da Reserva Ecológica El Edén (Ibarra *et al.* 2009). Vários estudos foram realizados com diatomáceas no Brasil, entretanto, as informações sobre ambientes cársticos ainda são incipientes. Entre os estudos em carste brasileiro podemos citar Moro & Fürsternberg (1993), que realizaram um estudo taxonômico e ecológico das diatomáceas da dolina Lagoa Dourada e identificaram 64 táxons em microscopia óptica, distribuídos em 22 gêneros, ainda salientaram a predominância de espécies eutróficas na formação cárstica de Furnas.

Estudos sobre diatomáceas matogrossenses foram realizados por Bicudo *et al.* (1995), na região do Pantanal de Poconé (MT), registrando 21 táxons, onde o gênero mais representado foi *Eunotia* Ehrenberg com 14 táxons. Santos *et al.* (2012) realizaram um estudo taxonômico das diatomáceas dos lagos salinos rasos do Pantanal da Nhecolândia, caracterizados por diferenças de pH, condutividade elétrica, e presença de macrófitas, onde foram determinadas 23 espécies, sendo 21 novas citações para o estado. Tremarin *et al.* (2011, 2012) realizaram estudos taxonômicos com o gênero *Aulacoseira* Thwaites e propuseram quatro novas espécies para duas lagoas do Pantanal no Mato Grosso. Amostras analisadas de diferentes ambientes aquáticos no Brasil, incluindo Maracaju, no estado do Mato Grosso do Sul, revelaram a ocorrência de uma nova espécie do gênero *Aulacoseira* (Tremarin *et al.* 2014).

De acordo com o catálogo de diatomáceas da região centro-oeste brasileira (Silva *et al.* 2011), foram registrados 64 gêneros e 503 táxons infragenéricos. O gênero mais representativo em riqueza foi *Eunotia* (81 táxons) e o mais citado foi *Navicula* (105 localidades). Goiás foi o estado com maior riqueza de espécies (377 táxons), seguido do Distrito Federal (219 táxons), Mato Grosso (22 táxons) e Mato Grosso do Sul (10 táxons). Recentemente, estudos morfológicos e taxonômicos em gêneros específicos realizados em ambiente cárstico na Serra da Bodoquena (Tusset *et al.* 2017, 2018, 2023), objetivando registrar detalhes ultraestruturais das frústulas em microscopia ótica e eletrônica, resultaram na proposição de nove novas espécies de diatomáceas, sendo duas pertencentes aos gêneros *Adlafia* Moser, Lange-Bertalot & Metzeltin: *Adlafia decora* sp. nov. e *A. triundulata* sp. nov.; duas no gênero *Stauroneis* Ehrenberg: *Stauroneis cavalcantei* sp. nov. e *S. karstica* sp. nov.; e ainda quatro novas pertencentes ao gênero *Dorofeyukea* Kulikovskiy, Maltsev, Andreeva, T. Ludwig & Kociolek: *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., *D. bodoquenensis* sp. nov., *D. calcarea* sp. nov., and *D. pantanalensis* sp. nov., foram incluídos dados sobre a preferência ecológica das espécies,

comparações com táxons semelhantes, e registro de ocorrência no Mato Grosso do Sul e no Brasil. A análise do gênero *Simonsenia* (Bacillariophyta) no Brasil resultou na proposição da espécie *Simonsenia bodoquenensis* sp. nov. (Tusset *et al.* no prelo) para esta região do Brasil.

Referências

- Barros, E.C.D.R.D. & Garcia, E.M. (org.). Gestão ambiental em Mato Grosso do Sul: conceitos e práticas. Dourados: UEMS, 2014.
- Bicudo, D.C., De-Lamonica-Freire, E.M., Figueiredo, D.M. & Lima, D. Ficoflórula do Pantanal de Poconé, Estado de Mato Grosso, Brasil: Centrales e Eunotiaceae (Bacillariophyceae). *Hoehnea*, 22(1/2): p. 165-182, 1995.
- Dias, J., A região carstica de Bonito, MS: Uma proposta de zoneamento geocológico a partir de uma unidade de paisagem. *Ensaio e Ciencia*, Abril, Campo Grande. 4: p. 9-43, 2000.
- Delgado, C., Ector, L., Novais, M.H., Blanco, S., Hoffmann, L. & Pardo, I. Epilithic diatoms of springs and springs-fed streams in Majorca Island (Spain) with the description of a new diatom species *Cymbopleura margalefii* sp. nov. *Fottea* 13(2): p. 87-104, 2013.
- Fabri, F. & Augustin, C.H.R.R., Auler, A.S. Relevô cárstico em rochas Siliciclásticas: Uma revisão com base na literatura. *Revista Brasileira de Geomorfologia* 15(3): 339–351, 2014.
- Feitosa, F.A.C. Hidrogeologia Conceitos e Aplicações, organização e coordenação científica Fernando A.C. Feitosa 3. Edição. Rio de Janeiro: CPRM: LABHID, p. 381-403, 2008.
- Ford, D. & Williams, P. Karst Hydrogeology and Geomorphology. Wiley, Chichester. 2007.
- Graham, L.E. & Willcox, L.W. Algae. Prentice Hall, Upper Saddle River. p. 640, 2000.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2022. Disponível em: [<http://www.algaebase.org>]. Acesso em 20 de dezembro de 2022.
- Hafner, D. & Jasprica, N. The composition of epiphytic diatoms (Bacillariophyta) on Charophyceae in Dinaric karstic ecosystems. *Natura Croatica*, 22(1): p. 199-204, 2013.
- Hartmann, A., Goldscheider, T., Wagener, T., Lange, J. & Weiler, M. Karst water resources in a changing world: review of hydrological modeling approaches. *Reviews of Geophysics* 52(3): 218-42, 2014.
- Heinrich, C.G., Leal, V.L., Schuch, M., Düpont, A. & Lobo, E.A. 2014. Epilithic diatoms in headwater areas of the hydrographical subbasin of the Andreas Stream, RS, Brazil, and their relation with eutrophication processes. *Acta Limnologica Brasiliensia* 26(4): 347-355.

- ICMBIO Instituto Chico Mendes de Biodiversidade. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/cecav/projetos-e-atividades/provincias-espeleologicas.html>. Acesso em 17 de out. de 2019.
- Ibarra, C., Tavera, R., & Novelo, E. Diversity and structure of periphyton and metaphyton diatom communities in a tropical wetland in Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad* 80(3): p. 763-769, 2009.
- Jasprica, N. & D. Hafner. Taxonomic composition and seasonality of diatoms in three Dinaric karstic lakes in Croatia. *Limnologica* 35: p. 304-319, 2005.
- Karmann, I. & Sánchez, L.E. Distribuição das rochas carbonáticas e províncias espeleológicas do Brasil. *Espeleotema* 13: p. 105-167, 1979.
- Karmann, I., & Lobo, H. A. S. Cavernas na Serra da Bodoquena. *O Carste* 22(2): 27-33, 2010.
- Kociolek, J.P., & Herbst, D.B. Taxonomy and distribution of benthic diatoms from Mono Lake, California, USA. *Transactions of the American Microscopical Society* 338-355, 1992.
- Kociolek, J.P., You, Q–M., Stepanek, J.G., Lowe, R.L. & Wang, Q–X. A new *Eunotia* (Bacillariophyta: Eunotiales) species from Karst formations of southern China. *Phytotaxa* 265: 285–293, 2016a.
- Kociolek, J.P., You, Q–M., Stepanek, J.G., Lowe, R.L. & Wang, Q–X. New freshwater diatom genus, *Edtheriotia* gen. nov. of the Stephanodiscaceae (Bacillariophyta) from south–central China. *Phycological Research* 64: 274-280, 2016b.
- Kovačič, G. & Ravbar, N. Analysis of human induced changes in a karst landscape — the filling of dolines in the Kras plateau, Slovenia. *Science of the Total Environment* 447: 2013.
- Lai, G.G., Padedda, B.M., Wetzel, C.E., Lugliè, A., Sechi, N. & Ector, L. Epilithic diatom assemblages and environmental quality of the Su Gologone karst spring (central eastern Sardinia, Italy). *Acta Botanica Croatica* 75(1): p. 129-143, 2016.
- Lai, G.G., Burato, S., Padedda, B.M., Zorza, R. Pizzul, E., Delgado, C., Lugliè, A. & Cantonati, M. Diatom Biodiversity in Karst Springs of Mediterranean Geographic Areas with Contrasting Characteristics: Islands vs Mainland. *Water* 11(12): 2602, 2019.
- Lange-Bertalot, H. 85 neue taxa und über 100 weitere neu definierte Taxa ergänzend zur Süßwasserflora von Mitteleuropa / 85 New Taxa and much more than 100 taxonomic clarifications supplementary to Süßwasserflora von Mitteleuropa. *Bibliotheca Diatomologica*. 27: p. 49-50, 1993.
- Li, B. Studies on diatoms of karst landform of Munigou Valley in Sichuan Province. Master Dissertation, Shanghai Normal University, Shanghai, 2013.
- Lowe, R.L. Periphyton patterns in lakes. In *Algal ecology: Freshwater Benthic Ecosystems* (R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R. Lowe, eds.). Academic Press, San Diego, p. 57-76, 1996.

- Lowe, R., Kociolek, J.P., You, Q., Wang, Q. & Stepanek, J. Diversity of the diatom genus *Humidophila* in karst areas of Guizhou, China. *Phytotaxa* 305(4): 269-284, 2017.
- Mann, D.G., Thomas, S.J. & Evans, K.M. Revision of the diatom genus *Sellaphora*: a first account of the larger species in the British Isles. *Fottea* 8: p. 75-78, 2008.
- Medlin, L. K. Evolution of the diatoms: major steps in their evolution and a review of the supporting molecular and morphological evidence. *Phycologia* 55(1): 79-103, 2016.
- Moro, R.S. & Fürsternberg, C.B. Diatomáceas (Bacillariophyceae) da Lagoa Dourada (Parque Estadual de Vila Velha), Paraná, Brasil. *Acta Biológica Paranaense* 22(1-4): p. 15-30, 1993.
- Novelo, E. Tavera, R. & Ibarra, C. Bacillariophyceae from Karstic Wetlands in Mexico *Bibliotheca Diatomologica* 54: p. 1-136, 2007.
- Pisano, L., Zumpano, V., Ppe, M., Liso, I.S. & Parise, M. 2022. Assessing Karst Landscape Degradation: A Case Study in Southern Italy. *Land* 11: 1842.
- Round, F.E., Crawford, R.M. & Mann, D.G. *The Diatoms: biology and morphology of the genera*, New York: Cambridge University Press. p. 1-747, 1990.
- Sallun Filho, W., Karmann, I., Boggiani, P.C., Petri, S., Cristalli, P.D.S. & Utida, G.A deposição de tufas quaternárias no estado de Mato Grosso do Sul: proposta de definição da formação Serra da Bodoquena. *Geologia USP. Série Científica* 9(3): p. 47-60, 2009.
- Santos, K.R. De S., Rocha, A.C.R.D. & Sant'anna C.L. Diatoms from shallow lakes In the Pantanal of Nhecolândia, Brazilian Wetland. Instituto de Botânica (IBt), Núcleo de Pesquisa em Ficologia. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro, SP., *Oecologia Australis*, 2012.
- Schobbenhaus, C. & Silva, C.R.D. Geoparques do Brasil: propostas. In: *Geoparques do Brasil: propostas*. Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais, 1: p. 1-745, 2012.
- Silva, M.B.; L.H.C.D., Pereira, M.G., Schiavo, J.A., Cooper, M. & Cavassani, R.D.S. Genesis and classification of soils in a topo sequence of karst in Serra da Bodoquena (MS). *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 37(6): p. 1464-1480, 2013.
- Silva, W.J., Nogueira, I.S. & Souza, M.G.M. Catálogo de diatomáceas da região Centro-oeste brasileira. *Iheringia. Série Botânica* 66(1): p. 1-32, 2011.
- Sládečková, A. Limnological investigation methods for the periphyton ("Aufwuchs") community. *The Botanical Review*, 28(2): 286-350, 1962.
- Solladay, J. D. 1994. Morphological variation in fossil diatoms from Mono Lake. In *Proceedings of the 11th International Diatom Symposium, Memoirs of the California Academy of Sciences* 17: p. 337-348, 1994.
- Stevenson, R.J. An introduction to algae ecology in freshwater benthic habitats. In R.G. Stevenson *et al.* (eds), *Algal Ecology*. Academic Press, San Diego, CA. p. 3-30, 1996.

- Stine, S. Late holocene fluctuations of Mono Lake, eastern California. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 78(3-4): 333-381, 1990.
- Stoermer, E.F. & Smol, J.P. *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge, University Press. p. 1-469, 1999.
- Theriot, E.C., Ashworth, M.P., Ruck, E., Nakov, T. & Jansen, R.K. A preliminary multigene phylogeny of the diatoms (Bacillariophyta): challenges for future research. *Plant Ecology and Evolution*, 143: p. 278-296, 2010.
- Tremarin, P.I., Loverde-Oliveira, S.M., Ludwig, T.A.V. & Torgan, L.C. Ultrastructure and distribution of *Aulacoseira gessneri* (Hustedt) Simonsen (Diatomeae). *Diatom Research*, 26(2): p. 189-197, 2011.
- Tremarin, P.I., Ludwig, T.A.V. & Torgan, L.C. Ultrastructure of *Aulacoseira brasiliensis* sp. nov. (Coscinodiscophyceae) and comparison with related species. *Fottea*, 12(2): p. 171-188, 2012.
- Tremarin, P.I., Ludwig, T.A.V., & Torgan, L. C. *Aulacoseira veraluciae* sp. nov. (Coscinodiscophyceae, Aulacoseiraceae): a common freshwater diatom from Brazil. *Phytotaxa*, 184(4): 208-222, 2014.
- Tusset, E.A., Tremarin, P.I., Straube, A. & Ludwig, T.A.V. Morphology of *Adlafia* taxa (Bacillariophyta, Cymbellaceae), with proposition of two new species from Brazil. *Phytotaxa*, 306(4): 259-274, 2017.
- Tusset, E.A., Tremarin, P.I. & Ludwig, T.A.V. Two new *Stauroneis* species (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) from midwestern karstic Brazilian formations. *Phytotaxa*, 358(3): 265-277, 2018.
- Tusset, E.A., Tremarin, P.I. & Ludwig, T.A. & Cardoso, L.S. The genus *Dorofeyukea* (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species. *Fottea* 23(1): 30-48, 2023.
- Tusset, E.A., Tremarin, P.I., Maciel, M.G.R., Cavalcante, K.P., Ludwig, T.A. & Cardoso, L.S. Three new *Simonsenia* species (Bacillariophyta) from Brazil. *Fottea* (no prelo).
- Udovič, M.G., Kulaš, A., Šušnjara, M., Arapov, J., Blanco, S. & Levkov, Z. *Cymbopleura amricula* stat nov. et. nom. nov.(Bacillariophyceae)—a rare diatom species from a karst river in Croatia. *Phytotaxa*, 532(2): 139-151, 2022.
- Van den Hoek, C., Mann, D.G. & Jahns, H.M. 1995. *Algae: an introduction to phycology*. University Press, Cambridge, p. 627, 1995.
- You, Q., Kocielek, J.P., Yu, P., Cai, M., Lowe, R. & Wang, Q. A new species of *Simonsenia* from a karst landform, Maolan Nature Reserve, Guizhou Province, China. *Diatom Research* 31(3): p. 1-7, 2016.

- You, Q.M., Kociolek, J.P., Cai, M.J., Lowe, R.L., Liu, Y. & Wang, Q. X. Morphology and ultrastructure of *Sellaphora constrictum* sp. nov. (Bacillariophyta), a new diatom from southern China. *Phytotaxa*, 327(3): 261-268, 2017.
- You, Q., Cao, Y., Yu, P., Kociolek, J.P., Zang, L., Wu, B., Lowe, R., & Wang, Q. Three new subaerial *Achnantheidium* (Bacillariophyta) species from a karst landform in the Guizhou Province, China. *Fottea* 19: 138-150, 2019a
- You, Q., Yu, P., Kociolek, J.P., Wang, Y., Luo, F., Lowe, R. & Wang, Q. A new species of *Achnanthes* (Bacillariophyceae) from a freshwater habitat in a karst landform from south-central China. *Phycological Research*. p. 1-8, 2019b.
- Wang, Q., Zhi, C., Hamilton, P.B. & Kang, F. Diatom distributions and species optima for phosphorous and current velocity in rivers from ZhuJiang Watershed within a Karst region of south-central China. *Fundamental and Applied Limnology, Archiv für Hydrobiologie* 175: 125-141, 2009.
- Wetzel, R.G. Recommendations for future research on periphyton. In *Periphyton of freshwater ecosystems. Developments in Hidrobiologie* 17:339-346, 1983.

Estrutura da tese

Face à carência de pesquisas sobre diatomáceas em ambientes cársticos realizadas no Brasil, em contraponto ao avanço do conhecimento sobre a biodiversidade de diatomáceas em outras regiões do mundo, nesta tese apresenta-se um conjunto de estudos taxonômicos, com aspectos ecológicos, de caráter exploratório e essencialmente baseado em ambientes cársticos em uma região do centro oeste do Brasil. Os resultados foram divididos em quatro capítulos, estruturados como manuscritos publicados, submetidos ou a serem submetidos para publicação em revistas científicas, de acordo com as respectivas normas. As revistas científicas selecionadas para cada artigo encontram-se indicadas na primeira página dos capítulos.

O primeiro capítulo “**Diatom flora in karst environments in the Brazilian Pantanal**” é produto de análises taxonômicas das diatomáceas coletadas no carste da Bodoquena, realizadas em microscopia óptica e eletrônica de varredura e transmissão, onde o estudo resultou na identificação de 171 espécies, distribuídas em 54 gêneros e 24 famílias. Doze espécies foram identificadas em nível de gênero, pois diferiram morfológicamente de acordo com a literatura consultada, provavelmente possam ser novas para a ciência. A comunidade de diatomáceas foi dominada por *Achnantheidium saphophilum*, *A. straubianum*, *A. minutissimum*, *Navicula cryptotenella* e *Nitzschia amphibia*. Os gêneros mais representativos em riqueza foram *Gomphonema* (19 espécies), *Sellaphora* (10), *Achnantheidium* (9), *Nitzschia* (8), *Navicula* (7), *Eunotia* (7), *Dorofeyukea* (6), *Luticola* (6) e *Pinnularia* (5). O manuscrito será submetido à *Acta Botanica Brasilica*, após as sugestões da banca ainda em 2023 (Fator de impacto: 1.395, 2021).

O segundo capítulo “**The genus *Dorofeyukea* (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species**” aborda a proposição de quatro novas espécies, ilustradas em microscopias óptica e eletrônica de varredura e sua morfologia foi comparada com outras espécies do gênero: *Dorofeyukea bahlsii* Tuset sp. nov., *D. bodoquenensis* Tuset, Tremarin, L.S. Cardoso & T. Ludwig sp. nov., *D. calcarea* Tuset, Tremarin, L.S. Cardoso & T. Ludwig sp. nov., e *D. pantanalensis* Tuset sp. nov. As novas espécies se distinguem umas das outras e de táxons semelhantes de *Dorofeyukea* principalmente pelo contorno valvar e formato dos ápices. *Dorofeyukea kotschyi* (Grunow) Kulikovskiy, Kociolek, Tuset & T. Ludwig e *D. texana* (Patrick) Kulikovskiy & Kociolek também foram registradas, descritas e ilustradas neste estudo. O artigo contou com a coautoria da Dra. Priscila Izabel Tremarin, e o artigo foi publicado no periódico *Fottea*, 23(1): 30-48, 2023. (Fator de impacto: 2.429, 2021).

No terceiro capítulo “**Three new *Simonsenia* species (Bacillariophyta) from Brazil**” o detalhamento morfológico empregado permitiu a confirmação que as populações de *Simonsenia*, que ocorreram nos ambientes da Serra da Bodoquena, se tratavam de uma nova proposição de espécie,

Simonsenia bodoquenensis Tusset, Tremarin, L.S. Cardoso & T. Ludwig sp. nov., ocorrendo no epifítton e no epilítton. O novo táxon foi formalmente proposto, ilustrado em microscopias óptica e eletrônica de varredura e sua morfologia foi comparada a táxons relacionados. O artigo foi elaborado com a colaboração da Dra. Priscila Izabel Tremarin, Dr. Kaoli Pereira Cavalcante e Maria Gabrielle Rodrigues Maciel, a partir das amostras disponibilizadas pelos coautores, outras duas espécies foram propostas como novas para a ciência, *Simonsenia amazonica* Tremarin sp. nov. e *Simonsenia bifurcata* Tremarin sp. nov., e ainda a ocorrência de *Simonsenia delicatula* Mikhailov & Makarova com espécie proveniente de amostras do Ceará (Ipu, Bica do Ipu). Este foi o primeiro estudo, baseado exclusivamente no gênero em microscopia de luz e eletrônica de varredura, registrando a ocorrência das quatro espécies de *Simonsenia* em território brasileiro, sendo três delas novas proposições já aceitas e uma espécie pouco conhecida foi incluída nesta publicação, e adicionados detalhes sobre a ocorrência do gênero para o Brasil. O manuscrito foi aceito no periódico Fottea em 2022 e encontra-se em processo de composição tipográfica (Fator de impacto: 2.429, 2021).

O quarto capítulo “*Fragilaria brasiliensis* sp. nov., a new diatom (Bacillariophyta) species from karstic formation in Brazil” trata da proposição de uma nova espécie *Fragilaria brasiliensis* Tusset, T. Ludwig et Tremarin sp. nov., ocorrendo no perifítton e no plâncton do carste da Serra da Bodoquena. O táxon foi ilustrado em microscopias óptica e eletrônica de varredura e transmissão, sua morfologia comparada a táxons presentes na literatura, e ainda será formalmente proposto, após a defesa da tese. Para a submissão deste artigo, vamos contar com a colaboração de dois especialistas em diatomáceas, que têm maior conhecimento sobre diatomáceas arrafídeas: Dr. David Williams e Dr. Bart Van de Vijver. O manuscrito será submetido à Phycological Research (Fator de impacto: 1.560, 2021).

Capítulo 1. Diatom flora in karst environments in the Brazilian Pantanal

As páginas do referido manuscrito foram suprimidas para a presente versão parcial da tese. O artigo foi submetido na revista *Acta Botanica Brasilica*.

Capítulo 2. The genus *Dorofeyukea* (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species.

Manuscrito publicado no periódico Fottea.

Referência completa: Tusset, E.A., Tremarin, P.I., Ludwig, T.A.V. and L.S. Cardoso. The genus *Dorofeyukea* (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species. Fottea 23(1): 30-48, 2023. DOI: 10.5507/fot.2022.011

The genus *Dorofeyukea* (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) in karst environments in the Brazilian Pantanal: with the description of four new species

Eduardo Antônio TUSSET^{1*}, Priscila Izabel TREMARIN², Thelma Alvim Veiga LUDWIG³ & Luciana de Souza CARDOSO¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Porto Alegre, RS, Brasil; *Corresponding author e-mail: eduardotu7@gmail.com

²Acqua Diagnósticos Ambientais Ltda., Curitiba, PR, Brasil

³Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Centro Politécnico, Jardim das Américas, CEP 81531–980, Curitiba, Paraná, Brasil

Abstract: In a Brazilian karst environment, composed predominantly of carbonate rocks, diatoms were collected in periphytic habitat (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic water bodies from the Serra da Bodoquena. This Pantanal region is known for its tourist and scenic value, covering springs and rivers with extensive formation of active limestone tufa. Six species of *Dorofeyukea* were investigated under light and electron microscopy. The genus is characterized by a narrow stauroid fascia surrounded by some irregularly shortened striae, uniseriate slightly radiated striae, areolae circular or rectangular covered internally by a hymenes and apical pseudosepta. Four new species are described and compared with similar taxa *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., *D. bodoquenensis* sp. nov., *D. calcarea* sp. nov., and *D. pantanalensis* sp. nov. The new species are distinguished from each other and from similar taxa of *Dorofeyukea* mainly by the valve contour and shape of the apices. *Dorofeyukea kotschyi* (Grunow) Kulikovskiy, Kociolek, Tusset et T. Ludwig and *D. texana* (Patrick) Kulikovskiy et Kociolek were also recorded, described and illustrated in this study.

Key words: calcareous habitat, diatom, new species, South America, stauroid fascia, taxonomy

INTRODUCTION

Dorofeyukea Kulikovskiy, Maltsev, Andreeva, T. Ludwig et Kociolek is a naviculoid genus, characterized by solitary cells, described based on molecular analyses and morphological approach of the valve and the chloroplast. *Dorofeyukea* species share narrow stauroid fascia surrounded by 1–3 irregularly shortened striae, the uniseriate and weakly radiate striae, almost parallel at the apices, the circular or rectangular areolae covered internally by hymenes, and the presence of an apical pseudoseptum at both apices. Partial DNA sequences from the SSU and rbcL loci show that *Dorofeyukea* belongs to the stauroneiid diatom clade (KULIKOVSKIY et al. 2019).

Currently, twelve species have been accepted taxonomically (GUIRY & GUIRY 2021) and *Dorofeyukea kotschyi* (Grunow) Kulikovskiy, Kociolek, Tusset et T. Ludwig is a cosmopolitan species of the genus, found in Europe (KULIKOVSKIY et al. 2019), Africa (STOYNEVA-GÄRTNER & DESCY 2020), Oceania (JOHN 2020), Asia (LIU et al. 2020), and South America (METZELTIN & LANGE-BERTALOT 1998; RUMRICH et al. 2020). *Dorofeyukea*

kotschyi was registered as *Navicula kotschyi* (Grunow) in floristic freshwater studies from Brazil (TREMARIN et al. 2009; SILVA et al. 2011). Detailed studies revealing the ultrastructure of *Dorofeyukea* species from Brazil are non-existent.

Navicula grimmei var. *rostellata* Hustedt, *Navicula grimmei* Krasske, and *N. grimmeioides* H.P. Gandhi were recently transferred to *Dorofeyukea* (KULIKOVSKIY et al. 2019; TRÁBERT et al. 2019). The detailed analyses of the type materials of *Dorofeyukea rostellata* (Hustedt) Kulikovskiy et Kociolek and *Dorofeyukea grimmeioides* (H.P. Gandhi) Ács, Buczkó et Ector under light (LM) and scanning electron microscopy (SEM) clarified the identity of the Croatian species. Also, the study corroborate that this group did not belong to *Navicula*, and fits in the main features of the recently proposed genus *Dorofeyukea* (TRÁBERT et al. 2019).

The analysis of environmental variables in the karstic water bodies from Serra da Bodoquena (TUSSET et al. 2017, 2018) revealed similarities (pH 7.2–8.3 and conductivity 320–470 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) with those recorded during the studies of *D. rostellata* in Croatian lakes,

located in calcareous bedrock and to those described for *D. indokotschyi* Kulikovskiy, Maltsev, Andreeva et Kociolek and *D. kotschyi* in Indonesia, as neutral to slightly alkaline water (pH 7.3–7.7) and low conductivity (230–240 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) (TRÁBERT et al. 2019, KULIKOVSKIY et al. 2019).

We analyzed populations of six species of *Dorofeyukea* from Brazilian freshwater carbonatic karstic environments, located at Serra de Bodoquena Park, describing and illustrating their morphology by light and scanning electron microscopy. We also compare them with similar taxa, and related its distribution with the physical and chemical water variables. Four species were proposed as new taxa.

MATERIAL AND METHODS

Studied area. The Serra da Bodoquena karst (21°05'42" S, 56°42'17" W) is located at the southwest edge of the Pantanal Complex, in Mato Grosso do Sul, a central west region state of Brazil, covering the cities of Bonito, Jardim and Bodoquena, where sampling occurred. The aquatic environments in the region are characterized by crystal clear and carbonated water and the presence of sinkholes is frequent, despite of the predominance of surface drainage (LINO et al. 1984; SALLUN FILHO et al. 2004). Active limestone tufas are formed by the continuous accumulation of calcium carbonate in association with biological activity (moss and algae) along the drainage system (SALLUN FILHO et al. 2009; BOGGIANI et al. 2011).

Sampling. For this study, 16 sampling sites (waterfall, stream, river and lake) were selected in karst water bodies. A total of 28 periphytic samples were collected in the rainy season: one sample in September 2013; 11 in November 2015 (sampling campaign I); and 16 in November 2019 (sampling campaign II), resulting in six epilithic, three episammic and 19 epiphytic samples (Table 1). We registered the following environmental variables during the sampling: water temperature ($^{\circ}\text{C}$), pH, electrical conductivity ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Also geographical coordinates are given (Table 1). In the 2019 sampling, other variables were analysed according to APHA (2012): Total P ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), Ca ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), Mg ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), and SiO_2 ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (Table 2).

Diatom analysis. Periphytic diatoms were obtained by scraping different substrates, such as stones, sand grains, specimens of Charophytes, submerged Bryophytes, with a scalpel wrapped in foil. Samples were fixed in 70% alcohol solution and cleaned according to SIMONSEN (1974) and MOREIRA-FILHO & VALENTE-MOREIRA (1981). Slides were prepared with clean diatom valves, included in Naphrax® (R.I. = 1.74), and were analysed using an Olympus BX40 microscope at 1000 \times magnification (N.A. 1.30, planachromat), equipped with Phase Contrast optics and the Olympus DP71 Imaging System. Cleaned samples were placed on aluminum stubs, dried and covered with gold in Balzers Sputtering SCD 030 for ultrastructural analyses of the frustules in the scanning electron microscopy (SEM). The SEM images were performed in a JEOL JSM 6360LV and TESCAN VEGA3 LMU microscopies, operated at 10–15 kV and 5–8 mm work distance. Besides that, part of the cleaned material was air dried on the formvar-coated copper grids (300 mesh) and analyzed under transmission electron microscopy (TEM) using a JEM 1200EXII, operated at 80 kV. Samples and slides

were deposited in the Herbarium of the Universidade Federal do Paraná (UPCB), and Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN), Brazil. The terminology used in the description of the taxa was based on BARBER & HAWORTH (1981) and ROUND et al. (1990).

RESULTS AND DISCUSSION

Dorofeyukea bahlsii Tuset sp. nov. (Figs 1–14)

Description

LM (Figs 1–8): Valves elliptic–lanceolate with capitate to subcapitate apices. Valve dimensions (n=20): length 24.2–29.2 μm , width 6–7 μm . Prominent pseudosepta. Axial area relatively broad. Raphe filiform. Proximal raphe ends straight, not expanded. Central area slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly two, forming narrow stauroid fascia bowtie-shaped, slightly expanded to the valve margins. Striae radiate, 22–24 in 10 μm . Areolae not discernible in LM.

SEM (Figs 9–14): Externally, striae continuing onto the mantle, radiate at the center becoming parallel towards the ends (Fig. 9). Areolae transapically elongated in the valve face and longitudinally elongated near the apices, 32–36 in 10 μm . Internally, areolae covered by hymenes (see Fig. 13). Internally and externally, the proximal raphe fissures are slightly deflected in the same direction (Figs 11–12). Internally, distinct, large pseudosepta present at each valve apex (Figs 10, 13). External distal raphe endings hook-shaped to the secondary side, deflected in the same direction, continuing onto the mantle (Fig. 14).

Holotype: UPCB collection No. 78228 (here depicted in Fig. 2), deposited in (Paraná Federal University, Botany Department, Brazil).

Paratypes: Brazil. Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River, waterfall in Sitio Ybirá Pe farm, epiphyton, UPCB 78254; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epilithon, UPCB 78432; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epilithon, ICN 203543; Mato Grosso do Sul: Bonito, Cachoeiras Park, epilithon, UPCB 78434. Mato Grosso do Sul: Bonito, Cachoeiras Park, epilithon, ICN 203545.

Type locality: Brazil. Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, 20°54'09.7" S, 56°31'48.4" W September 2013, E. Tuset s.n.

Habitat: periphytic (epiphyton, epilithon) in lotic environments.

Etymology: The species name was a tribute to Dr. Loren Bahls for his contribution to the study of diatoms.

Ecology: *Dorofeyukea bahlsii* was very rare in these samples. The populations were found in periphytic habitat (epiphyton, epilithon) of lotic environments. It was found in neutral to alkaline waters (pH 7.6–8), conductivity 387–536 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, water temperature 25–30 $^{\circ}\text{C}$, $\text{N}-\text{NO}_3$ 0.10–0.27 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Total P 0.01–0.03 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$,

Table 1. Sampling data and access number in the Herbarium of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN) and of the Universidade Federal do Paraná (UPCB).

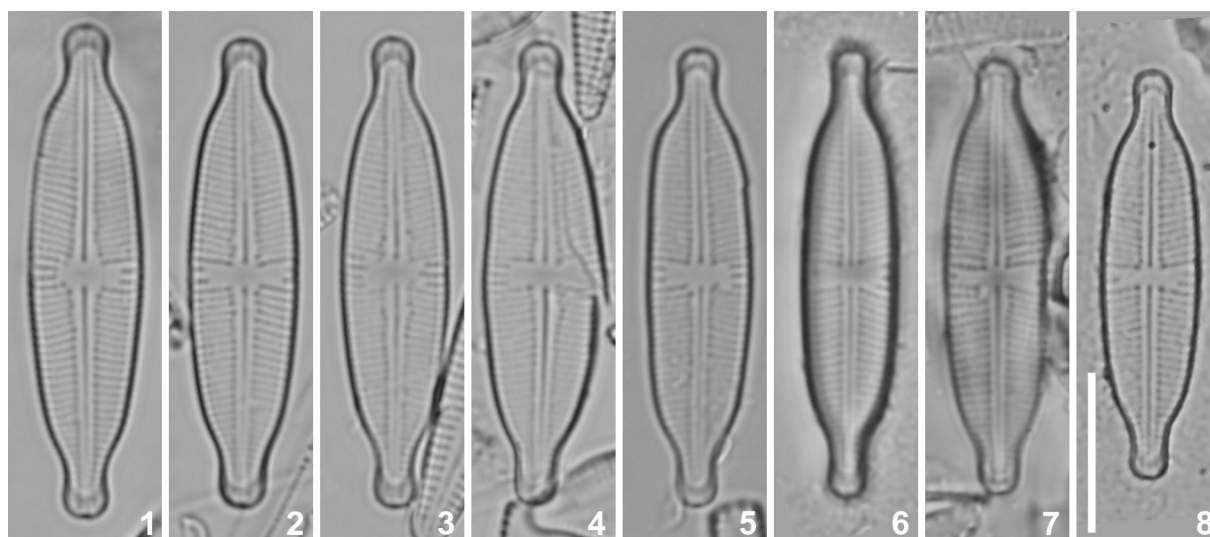
Date	Access UPCB	Access ICN	Locality	City	Geographical coordinates	Sample or substrate	pH	Conductivity ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Altitude (m)	Water Tempera- ture ($^{\circ}\text{C}$)
09/09/2013	78228		Blue Spring	Bonito	20°54'09.7" S, 56°31'48.4" W	Epiphyton /Charophytes	322	...
11/10/2015	76099		Formoso River	Bonito	21°10'17.7" S, 56°27'00.4" W	Epiphyton /Charophytes	7.8	376	285	27
11/10/2015	76100		Sucuri River	Bonito	21°15'12.9" S, 56°33'37.3" W	Epiphyton /Charophytes	7.6	323	325	27
11/10/2015	78233		Olho d'Água River	Jardim	21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W	Epiphyton /Charophytes	7.2	320	241	27
11/10/2015	78261		Prata River	Jardim	21°26'08.6" S, 56°25'46.2" W	Epilithon	7.2	320	240	27
11/10/2015	78266		Olho d'Água River	Jardim	21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W	Epipsammon	7.2	320	241	27
11/10/2015	78245		Prata River	Jardim	21°26'08.6" S, 56°25'46.2" W	Epiphyton /Charophytes	7.2	320	240	27
11/11/2015	78246		Chapeninha Spring	Bonito	20°50'28.7" S, 56°35'39.8" W	Epiphyton/Bryophytes	7.5	476	308	24
11/11/2015	78248		Chapena waterfall	Bonito	20°49'58.8" S, 56°33'17.3" W	Epiphyton/Bryophytes	7.6	382	308	28
11/12/2015	78254		Formoso River/ Sitio Ybirá Pe waterfall	Bonito	21°09'02.9" S, 56°25'40.7" W	Epiphyton /Charophytes	7.6	387	271	30
11/13/2015	78256		Formoso River/ Ecologic Park	Bonito	21°10'38.1" S, 56°27'08.1" W	Epiphyton /Charophytes	8	376	281	26
11/15/2015	78240		Boca da Onça waterfall	Bodoquena	20°44'23.5" S, 56°44'04.6" W	Epiphyton/Bryophytes	7.3	407	270	27
11/22/2019	78438	203549	Formoso River / Sitio Ybirá Pe waterfall	Bonito	21°09'02.9" S, 56°25'40.7" W	Epiphyton /Charophytes	7.1	411	271	27

Table 1 Cont.

11/22/2019	78453	203564	Bonito River	Bonito	21°08'58.4" S, 56°25'40.3" W	Epiphyton /Charophytes	7.8	422	267	28
11/25/2019	78420	203531	Mimoso River	Bonito	20°59'55.5" S, 56°30'50.1" W	Epiphyton /Charophytes	8	536	246	28
11/25/2019	78431	203542	Prata River	Jardim	21°26'08.6" S, 56°25'46.2" W	Epilithon	7.4	371	240	26
11/25/2019	78432	203543	Mimoso River	Bonito	20°59'55.5" S, 56°30'50.1" W	Epilithon	8	536	246	28
11/25/2019	78440	203551	Misteriosa Lake	Jardim	21°27'30.9" S, 56°27'12.4" W	Epiphyton /Charophytes	8.2	337	254	25
11/25/2019	78443	203554	Olho d'Água River	Jardim	21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W	Epiphyton /Charophytes	7.4	338	241	26
11/25/2019	78457	203568	Prata River	Jardim	21°26'08.6" S, 56°25'46.2" W	Epiphyton /Charophytes	7.4	371	240	26
11/25/2019	78456	203567	Olho d'Água River	Jardim	21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W	Epipsammon	7.4	338	241	26
11/26/2019	78422	203533	Boca da Onça waterfall	Bodoquena	20°44'23.5" S, 56°44'04.6" W	Epiphyton/Bryophytes	8.6	395	270	26
11/26/2019	78446	203557	Salobra River	Bodoquena	20°44'14.2" S, 56°44'03.9" W	Epilithon	8.1	339	146	29
11/26/2019	78455	203566	Formoso River/ Ecologic Park	Bonito	21°10'38.1" S, 56°27'08.1" W	Epiphyton /Charophytes	8	423	281	27
11/27/2019	78434	203545	Mimoso River/ Cachoeira Park	Bonito	21°00'20.4" S, 56°30'04.7" W	Epilithon	7.7	476	274	25
11/29/2019	78428	203539	Blue Spring	Bonito	20°54'09.7" S, 56°31'48.4" W	Epiphyton /Charophytes	6.7	669	322	25
11/29/2019	78429	203540	Lake Blue Spring	Bonito	20°53'47.8" S, 56°31'36.9" W	Epilithon	7	...	322	26
11/29/2019	78454	203565	Blue Spring	Bonito	20°54'09.7" S, 56°31'48.4" W	Epipsammon	6.7	669	322	25

Table 2. Chemical variables at sampling sites in 2019.

Locality	Ca (mg.l ⁻¹)	Total P (mg.l ⁻¹)	Mg (mg.l ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mg.l ⁻¹)	SiO ₂ (mg.l ⁻¹)
Blue Spring	60.60	0.01	39.10	0.10	10.90
Prata River	63.40	0.02	18.90	0.10	21.40
Olho d'Água River	53.60	0.03	19.10	0.10	23.20
Misteriosa Lake	50.40	0.03	18.50	0.10	21.40
Salobra River	47.20	0.01	4.07	0.66	7.87
Boca da Onça waterfall	26.80	0.01	27.60	0.21	11.20
Mimoso River	64.60	0.02	44.60	0.10	17.20
Mimoso River/Cachoeira Park	64.60	0.02	44.60	0.10	17.20
Formoso River /Sitio Ybirá Pe waterfall	29.10	0.03	16.40	0.27	9.72
Formoso River/Ecologic Park	46.90	0.01	12.60	0.27	8.26

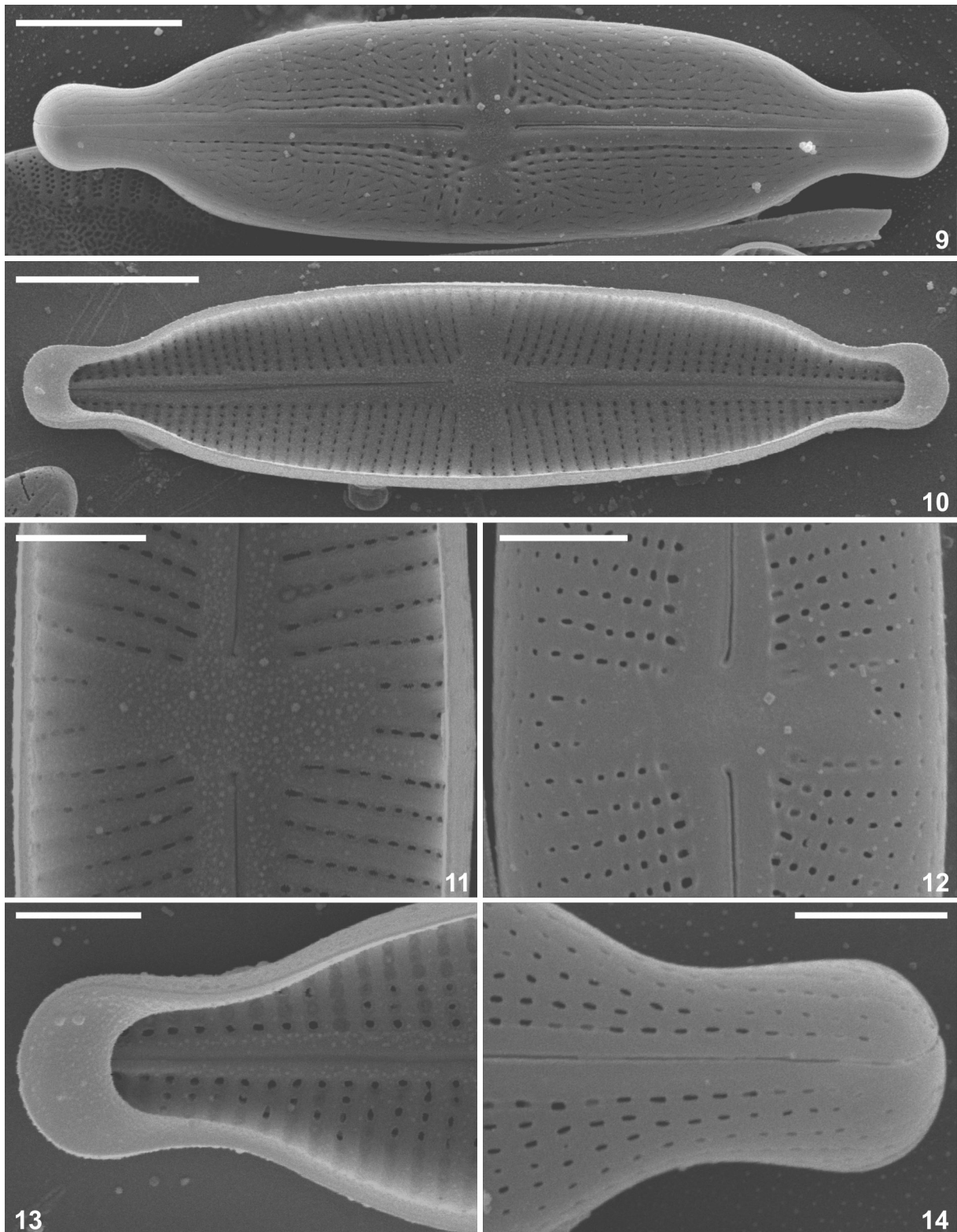
Figs 1–8. *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., LM, valve views: (2) holotype specimen. Scale bar 10 µm.

Ca 29.1–64.6 mg.l⁻¹, Mg 16.4–44.6 mg.l⁻¹, SiO₂ 9.72–17.2 mg.l⁻¹ (Tables 1–2).

Dorofeyukea bahlsii is similar to *Dorofeyukea septata* (Hustedt) J. John in relation to the prominent pseudoseptum, broad axial area, dimensions and radiate striae becoming parallel at the apices. *Dorofeyukea septata* can be distinguished from *D. bahlsii* by the linear–lanceolate to lanceolate valve shape, sub–rostrate to rounded apices, and central area expanded (Table S1). The species was abundant in King Fish Hotspring, in neutral waters (pH 7.2) and high conductivity (1273 µS.cm⁻¹), and in Stevenson Creek, South Australia with alkaline waters (pH 9.1) and low conductivity (207 µS.cm⁻¹) (JOHN 2020).

Dorofeyukea bahlsii have pseudosepta very prominent and quite visible in LM, differing from *D. kotschyi*. In addition, *D. bahlsii* has a greater number of areolae in the striae (Table S1) and these are transapically elongated in central area. In *D. bahlsii* the central and axial areas are broader, compared to *D. kotschyi* (POTAPOVA 2013; KULIKOVSKIY et al. 2019).

D. indokotschyi differs from *D. bahlsii* by the elongated apices, narrow pseudoseptum not discernible in LM, and the less dense striae (20–21 in 10 µm). The population of *D. bahlsii* has elliptic–lanceolate valves, with capitate to subcapitate apices and denser striae, 22–24 at 10 µm (KULIKOVSKIY et al. 2019) (Table S1).



Figs 9–14. *Dorofeyukea bahlsii* sp. nov., SEM: (9–10) external and internal valve view, respectively; (11) internal view of median region of valve showing the narrow fascia slightly expanded to the valve margins with often 1–2 strongly shortened striae and proximal raphe endings; (12) external view of median region showing the proximal raphe endings; (13) internal view of valve apex, note the pseudosepta and areolae occlusion near the apex; (14) external view valve showing the distal raphe ending extending to the mantle. Scale bars 5 μm (9–12), 2 μm (13–14).

Dorofeyukea bodoquenensis* Tuset, Tremarin, L.S. Cardoso et T. Ludwig sp. nov. (Figs 15–33)*Description**

LM (Figs 15–26): Valves lanceolate with subrostrate apices. Valve dimensions (n=100): length 11.2–31.8 μm , width 3.6–5.5 μm . Prominent pseudosepta. Axial area relatively broad. Raphe filiform. Proximal raphe endings straight, not expanded. Central area slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly one, forming narrow stauroid fascia, slightly expanded to the valve margins. Striae radiate from the valve center to the apices, 22–26 in 10 μm . Areolae not discernible in LM.

SEM (Figs 27–33): Externally, striae radiate, continuing onto the mantle. Areolae rounded to transapically elongate in the valve face, and longitudinally elongated near the apices, 35–40 in 10 μm . Internally, areolae covered by hymenes (see Fig. 32). Internally proximal raphe ends slightly deflected (Fig. 30). Externally, proximal raphe ends shaped like a tear drop (Fig. 31). Internally, distinct, large pseudoseptum present at each valve apex (Figs 27, 32). In external view the distal raphe end hook-shaped to the secondary side, continuing onto the mantle (Fig. 33).

Holotype: UPCB collection No. 78228 (here depicted in Fig. 19), deposited in (Paraná Federal University, Botany Department, Brazil).

Paratypes: Brazil. Mato Grosso do Sul: Jardim, Chapeninha Spring, epiphyton, UPCB 78246; Mato Grosso do Sul: Bonito, Prata River, epilithon, UPCB 78261; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epiphyton, UPCB 78420; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epiphyton, ICN 203531; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epiphyton, UPCB 78428; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epiphyton, ICN 203539; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, UPCB 78431; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, ICN 203542; Mato Grosso do Sul: Jardim, Misteriosa Lake, epiphyton, UPCB 78440; Mato Grosso do Sul: Jardim, Misteriosa Lake, epiphyton,

ICN 203551; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Salobra River, epilithon, UPCB 78446; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Salobra River, epilithon, ICN 203557; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epipsammon, UPCB 78454; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epipsammon, ICN 203565; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River Ecologic Park, epilithon, UPCB 78455. Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River Ecologic Park, epilithon, ICN 203566.

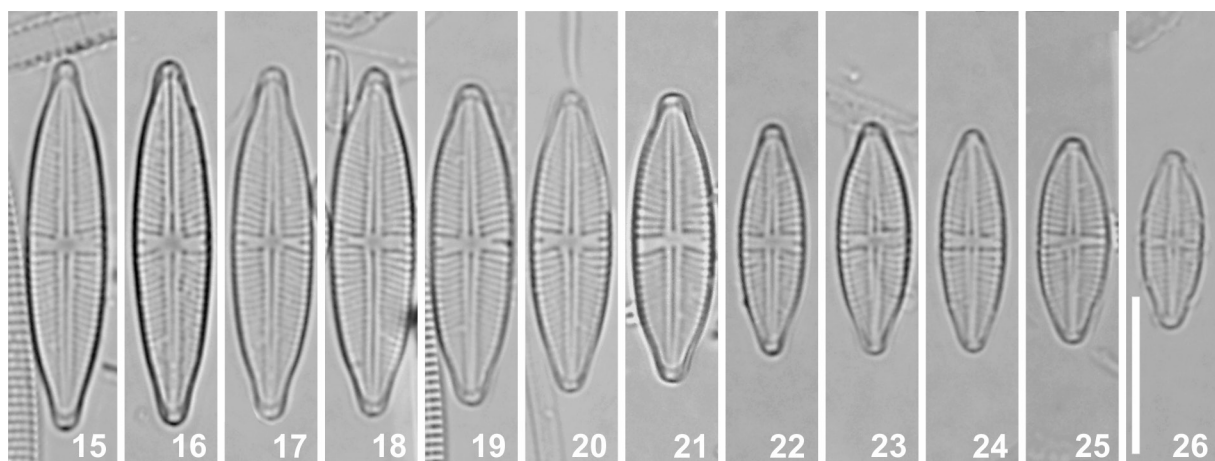
Type locality: Brazil. Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, 20°54'09.7" S, 56°31'48.4" W September 2013, E. Tuset s.n.

Habitat: periphytic (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic environments.

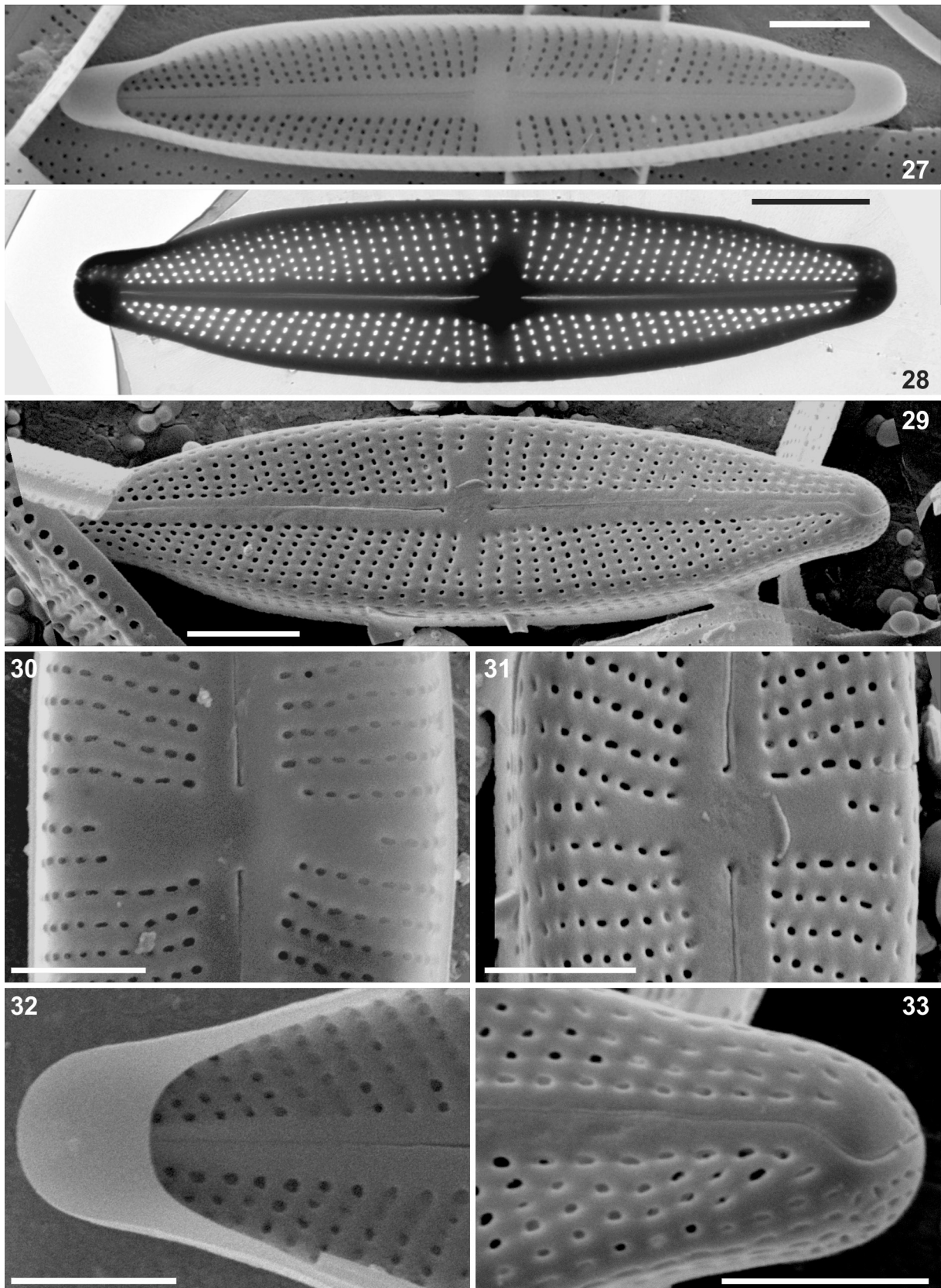
Etymology: The specific epithet refers to the karstic study region of the Serra da Bodoquena National Park.

Ecology: *Dorofeyukea bodoquenensis* was more abundant in the type material. The population were collected in periphytic habitat (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic environments. It was found in neutral to alkaline waters (pH 6.7–8.2), conductivity 320–669 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, water temperature 25–29 °C, N-NO₃⁻ 0.10–0.66 mg.l⁻¹, Total P 0.01–0.03 mg.l⁻¹, Ca 46.9–64.6 mg.l⁻¹, Mg 4.07–44.6 mg.l⁻¹, SiO₂ 7.86–21.4 mg.l⁻¹ (Tables 1–2).

The features used to separate *D. bodoquenensis* from similar species of *Dorofeyukea* are presented in Table S1. *Dorofeyukea septata* is similar to *D. bodoquenensis* in terms of its lanceolate valve contour, striation pattern and prominent pseudoseptum at the valve apex. However, these species differ from *D. bodoquenensis* by the rounded areolae and the striae radiate in the center becoming parallel at the ends. Other differences include the central area that is bowtie-shaped (JOHN 2020). Another similar species, *D. calcarea* is distinguished by the slightly expanded central area towards the valve margins (see Figs 46), and also, by the striae slightly radiate along the valve face and almost parallel at the apices. Moreover, pseudosepta are present in the apices, but not easily visible LM (Figs 34–45).



Figs 15–26. *Dorofeyukea bodoquenensis* sp. nov., LM. valve views: (19) holotype specimen. Scale bar 10 μm .



Figs 27–33. *Dorofeyukea bodoquenensis* sp. nov., (27, 29–33) SEM, (28) TEM: (27) internal valve view; (28) valve overview showing the striation pattern; (29) external valve view; (30) internal view of median region of valve showing the narrow fascia slightly expanded to the valve margins; (31) external view of median region showing the proximal raphe endings; (32) internal view of valve apex, note the pseudosepta and areolae occlusion; (33) tilted valve showing the distal raphe ending extending to the mantle. Scale bars 3 μ m (27–29), 2 μ m (30–33).

Dorofeyukea calcarea* Tuset, Tremarin, L.S. Cardoso et T. Ludwig sp. nov. (Figs 34–51)*Description**

LM (Figs 34–45): Valves lanceolate, minor shapes elliptical, protracted ends, subrostrate to rostrate. Valve dimensions (n=70): length 10.5–22 µm, width 3.9–5.5 µm. Narrow pseudosepta. Axial area narrow, linear. Raphe filiform. Proximal raphe endings straight, not expanded. Central area slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly two, forming narrow stauroid fascia bowtie-shaped, slightly expanded to the valve margins. Striae radiate, 20–24 in 10 µm. Areolae not discernible in LM.

SEM (Figs 46–51): Externally, striae continuing onto the mantle, radiate at the center becoming parallel towards the ends. Areolae rounded to transapically elongated in the valve face and longitudinally elongated near the apices, 30–35 in 10 µm. Internally, areolae covered by hymenes (Fig. 51). Externally and internally, the proximal raphe fissures are slightly deflected in the same direction (Figs 48–49). In external view the distal raphe end hook-shaped to the secondary side, continuing onto the mantle (Fig. 50). Internally, distinct narrow pseudoseptum present at each valve apex (Figs 47, 51).

Holotype: UPCB collection No. 78233 (here depicted in Fig. 36), deposited in (Paraná Federal University, Botany Department, Brazil).

Paratypes: Brazil. Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Boca da Onça waterfall, epiphyton, UPCB 78240; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epiphyton, UPCB 78245; Mato Grosso do Sul: Bonito, Chapena waterfall, epiphyton, UPCB 78248; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River, waterfall in Sítio Ybirá Pe, epiphyton, UPCB 78254; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River in Ecologic Park, epiphyton, UPCB 78256; Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epipsammon, UPCB 78266; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Boca da Onça waterfall, epiphyton, UPCB 78422; Mato Grosso

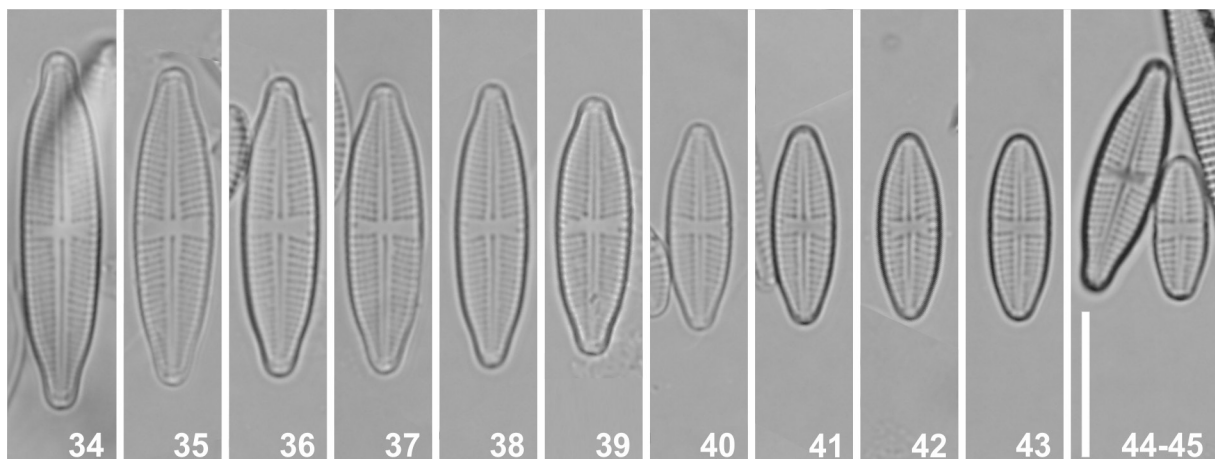
do Sul: Bonito, Blue Spring, epiphyton, UPCB 78428; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epilithon, UPCB 78429; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epilithon, ICN 203540; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, UPCB 78431; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, ICN 203542; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epilithon, UPCB 78432; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epilithon, ICN 203543; Mato Grosso do Sul: Bonito, Cachoeiras Park, epilithon, UPCB 78434; Mato Grosso do Sul: Bonito, Cachoeiras Park, epilithon, ICN 203545; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River, waterfall in Sítio Ybirá Pe, epiphyton, UPCB 78438; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River, waterfall in Sítio Ybirá Pe, epiphyton, ICN 203549; Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epiphyton, UPCB 78443; Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epiphyton, ICN 203554; Mato Grosso do Sul: Bonito, Bonito River, epiphyton, UPCB 78453; Mato Grosso do Sul: Bonito, Bonito River, epiphyton, ICN 203564; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epiphyton, UPCB 78457; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epiphyton, ICN 203568.

Type locality: Brazil. Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, 21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W, November 2015, E. Tuset s.n.

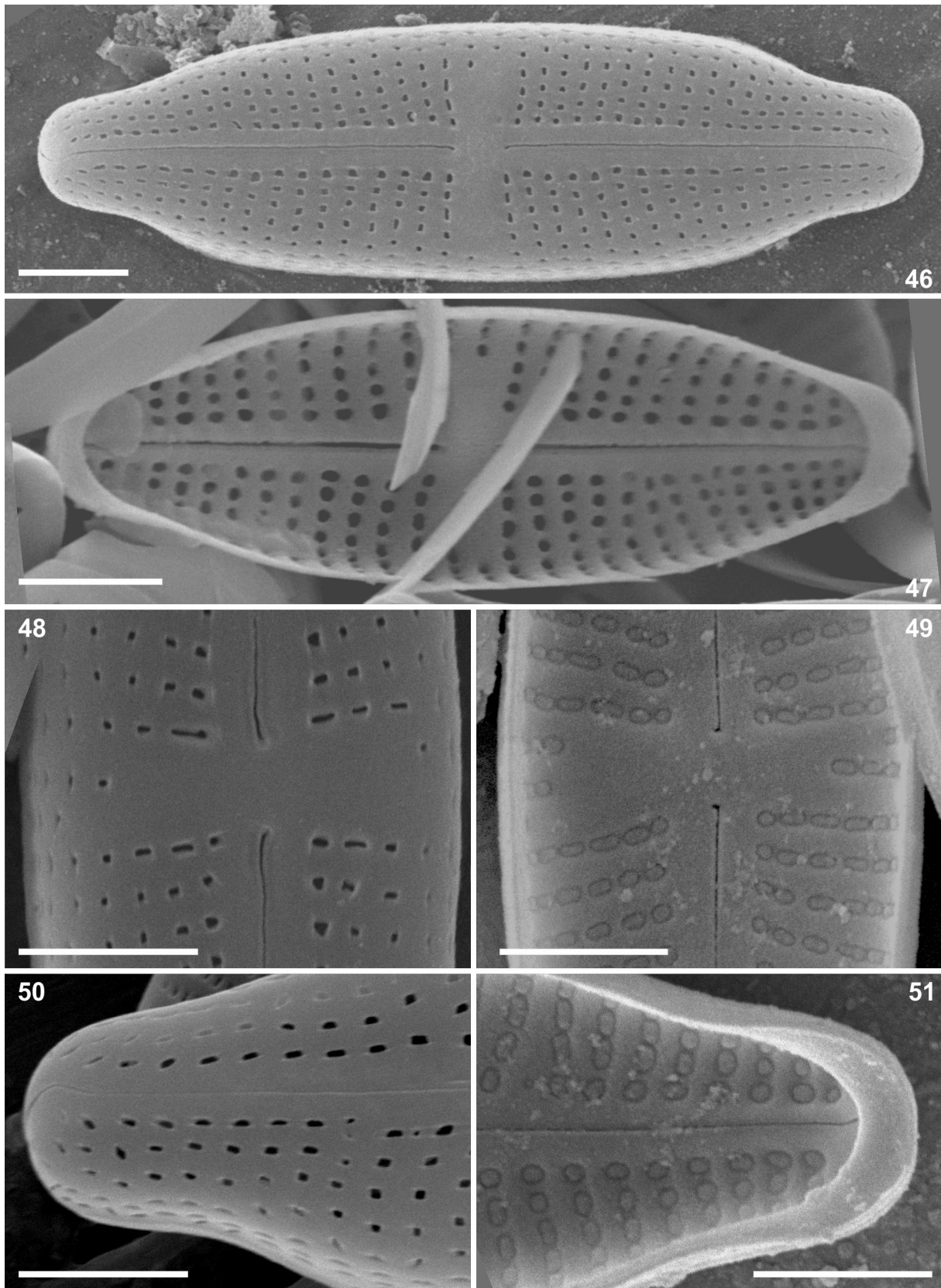
Habitat: periphytic (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic environments.

Etymology: The specific epithet refers to the occurrence of the taxon in carbonated waters from the karst landform of the Bodoquena plateau.

Ecology: *Dorofeyukea calcarea* was more abundant in the type material. The population were collected in periphytic habitat (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic environments. It was found in neutral to alkaline waters (pH 6.7–8.6), conductivity 320–669 µS.cm⁻¹, water temperature 25–29 °C, N–NO₃⁻ 0.10–0.27 mg.l⁻¹, Total P 0.01–0.03 mg.l⁻¹, Ca 26.8–64.6 mg.l⁻¹, Mg 12.6–44.6 mg.l⁻¹, SiO₂ 8.26–23.2 mg.l⁻¹ (Tables 1–2).



Figs 34–45. *Dorofeyukea calcarea* sp. nov., LM, valve views: (36) holotype specimen. Scale bar 10 µm.



Figs 46–51. *Dorofeyukea calcarea* sp. nov., SEM: (46–47) external and internal valve view, respectively; (48) external view of central area showing the striation pattern and the proximal raphe endings; (49) internal view of central area showing the narrow fascias; (50) external view of valve apex showing the distal raphe ending; (51) internal view of valve apex, note the pseudosepta. Scale bars 2 μ m.

Dorofeyukea calcarea is similar to *D. grimmeioides* and *D. rostellata* in relation to lanceolate valves outline, central area and raphe ends. However, these species differ from *D. calcarea* by having larger valves, radiate striation pattern throughout the valve, lower densities of striae and areolae (Table S1). In addition, *D. grimmeioides* has capitate or rostrate apices, smaller and more elliptical central area with elongate striae. *Dorofeyukea calcarea* has uniform areolae, which is difficult to be observed in LM (Figs 34–45). The central area of *D. rostellata* is transapically oval outside and fairly irregular inside, and areolae can easily be counted in LM. This species has rostrate apices and internal distal raphe ends straight, terminating in a small helictoglossa near the apices (TRÁBERT et al. 2019). *D. Dorofeyukea calcarea* has a maximum valve width of 5.5 μm , while the minimum valve width of *D. rostellata* is 6.6 μm (HUSTEDT 1937).

***Dorofeyukea kotschy* (Grunow) Kulikovskiy, Kociolek, Tusset et T. Ludwig in KULIKOVSKIY et al. (2019) (Figs 52–68)**

Basionym: *Navicula kotschy* Grunow, GRUNOW (1860): Verh. K. Zool.–Bot. Ges. Wien 10: 538, pl.2: fig.12.

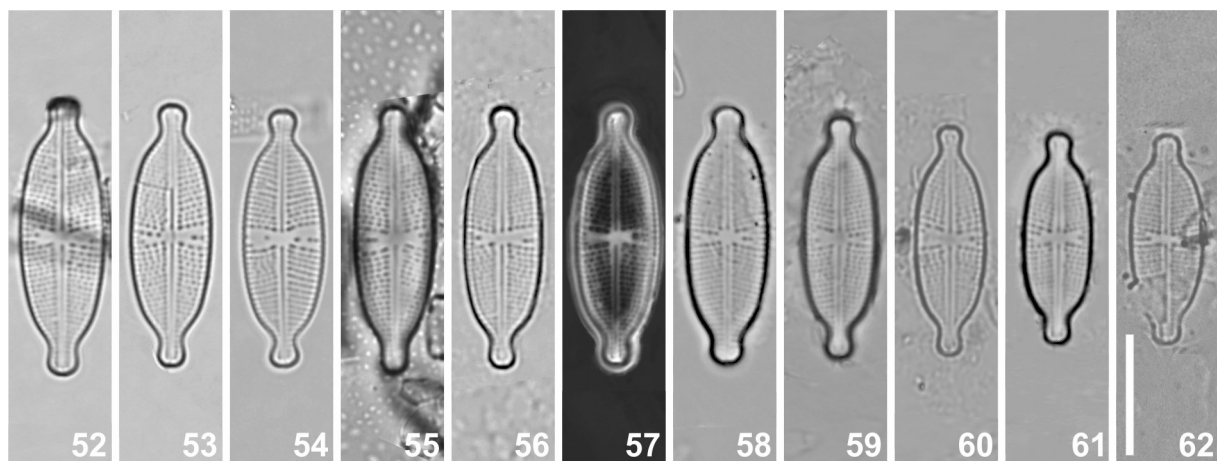
LM (Figs 52–62): Valves elliptic–lanceolate, with rostrate to capitate ends. Valve dimensions (n=35): length 16–23.6 μm , width 5.5–7 μm . Axial area narrow, linear. Raphe filiform. Proximal raphe endings straight, not expanded. Central area slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly two, forming narrow stauroid fascia bowtie-shaped, expanded to the valve margins. Striae radiate, 22–24 in 10 μm . Areolae rounded to transapically elongate, 26–30 in 10 μm .

SEM (Figs 63–68): Externally, striae uniseriate, continuing onto the mantle, radiate at the center becoming parallel towards the ends (Fig. 63). Areolae transapically elongated in the valve face and longitudinally elongated near the apices (Figs 66, 68). Internally, areolae covered by hymenes (see Fig. 67). Proximal raphe fissures internally straight, externally slightly curved (Figs 65–66). Distal raphe endings externally hook-shaped, continuing

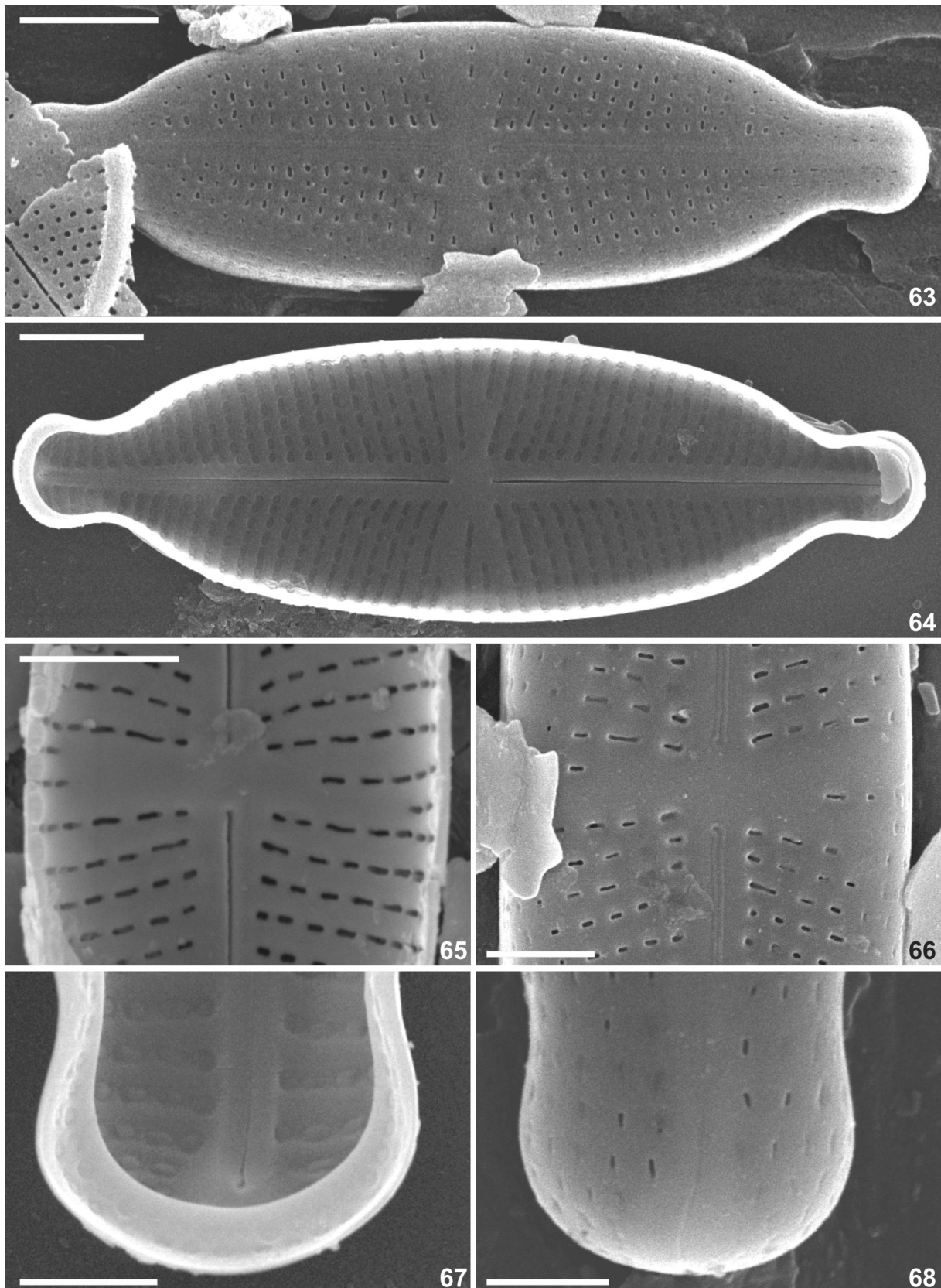
onto the mantle (Fig. 68) and internally ending in a small helictoglossa (Fig. 67). Distinct, but narrow pseudo-septum at each valve apice, ornamented with rounded pores (Figs 64, 67).

Occurrence in samples: BRAZIL. Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River Ecologic Park, epiphyton, UPCB 76099; Mato Grosso do Sul: Bonito, Sucuri River Ecologic Park, epiphyton, UPCB 76100; Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epiphyton, UPCB 78233; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Boca da Onça waterfall, epiphyton, UPCB 78240; Mato Grosso do Sul: Jardim, Chapeninha Spring, epiphyton, UPCB 78246; Mato Grosso do Sul: Bonito, Chapena waterfall, epiphyton, UPCB 78248; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River in Ecologic Park, epiphyton, UPCB 78256; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epiphyton, UPCB 78420; Mato Grosso do Sul: Bonito, waterfall in Mimoso River, epiphyton, ICN 203531; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Boca da Onça waterfall, epiphyton, UPCB 78422; Mato Grosso do Sul: Bodoquena, Boca da Onça waterfall, epiphyton, ICN 203533; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, UPCB 78431; Mato Grosso do Sul: Jardim, Prata River, epilithon, ICN 203542; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River Ecologic Park, epilithon, UPCB 78455; Mato Grosso do Sul: Bonito, Formoso River Ecologic Park, epilithon, ICN 203566; Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epipsammon, UPCB 78456. Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, epipsammon, ICN 203567.

Ecology: *Dorofeyukea kotschy* was rare in the samples. The population was observed in periphytic habitat (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic environments. It was found in neutral to alkaline waters (pH 7.2–8.6), conductivity 320–536 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, water temperature 24–28 $^{\circ}\text{C}$, N-NO_3^- 0.10–0.66 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Total P 0.01–0.03 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Ca 26.8–64.6 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Mg 12.6–44.6 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, SiO_2 8.2–23.2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Tables 1–2).



Figs 52–62. *Dorofeyukea kotschy*, LM, (phase contrast in 57), valve views. Scale bar 10 μm .



Figs 63–68. *Dorofeyukea kotschyi*, SEM: (63) external valve view; (64) internal valve view; (65) internal view of median region of valve showing the narrow fascia slightly expanded to the valve margins; (66) external view of median region showing the proximal raphe endings; (67) internal view of valve apex, note the small helictoglossa, pseudosepta and areolae occlusion near the apex; (68) external view of valve apex showing the distal raphe ending extending to the mantle. Scale bars 5 µm (63–64), 2 µm (65–66), 1 µm (67–68).

Dorofeyukea indokotschyi and *D. orangiana* (Patrick) Kulikovskiy et Kocielek have the external areolae openings transapically elongated and longitudinally elongated near the apices, but differ from *D. kotschyi* by valve shape, apices and number of areolae (Table S1).

D. kotschyi was described from the thermal waters of Budapest, Hungary in 1860, and it is now commonly found across the USA (KULIKOVSKIY et al. 2016 a, b). The species has been reported to Lake Upper Killarney and the river near Glencar (pH 6.3) in County Kerry in Ireland (FOGED 1977). *D. kotschyi* was also reported to Dongting Lake, first record of the genus *Dorofeyukea* to China (LIU et al. 2020).

KULIKOVSKIY et al. (2019) recorded the occurrence of *D. kotschyi* in planktonic habitat (240 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, pH 7.6, water temperature 30 °C) somewhat similar to that where we found *D. kotschyi* in Brazil. *Dorofeyukea kotschyi* [as *Luticola kotschyi* (Grunow) Taylor, Harding et Archibald, nom. inval.] has recently been reported occurring in phytoplankton samples for northwest Argentina in high-altitude from mountain lagoon between 400 and 3.000m (TABOADA et al. 2021).

***Dorofeyukea pantanalensis* Tusset sp. nov. (Figs 69–81)**

Description

LM (Figs 69–75): Valves rhombical–lanceolate, acutely rounded apices, not protracted. Valve dimensions (n=20): length 29.1–33.6 μm , width 5.4–7 μm . Prominent

pseudosepta. Broad axial area. Raphe filiform. Proximal raphe endings straight, not expanded. Central area round, slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly two, forming narrow stauroid fascia, slightly expanded to the valve margins. Striae radiate, 22–24 in 10 μm . Areolae not discernible in LM.

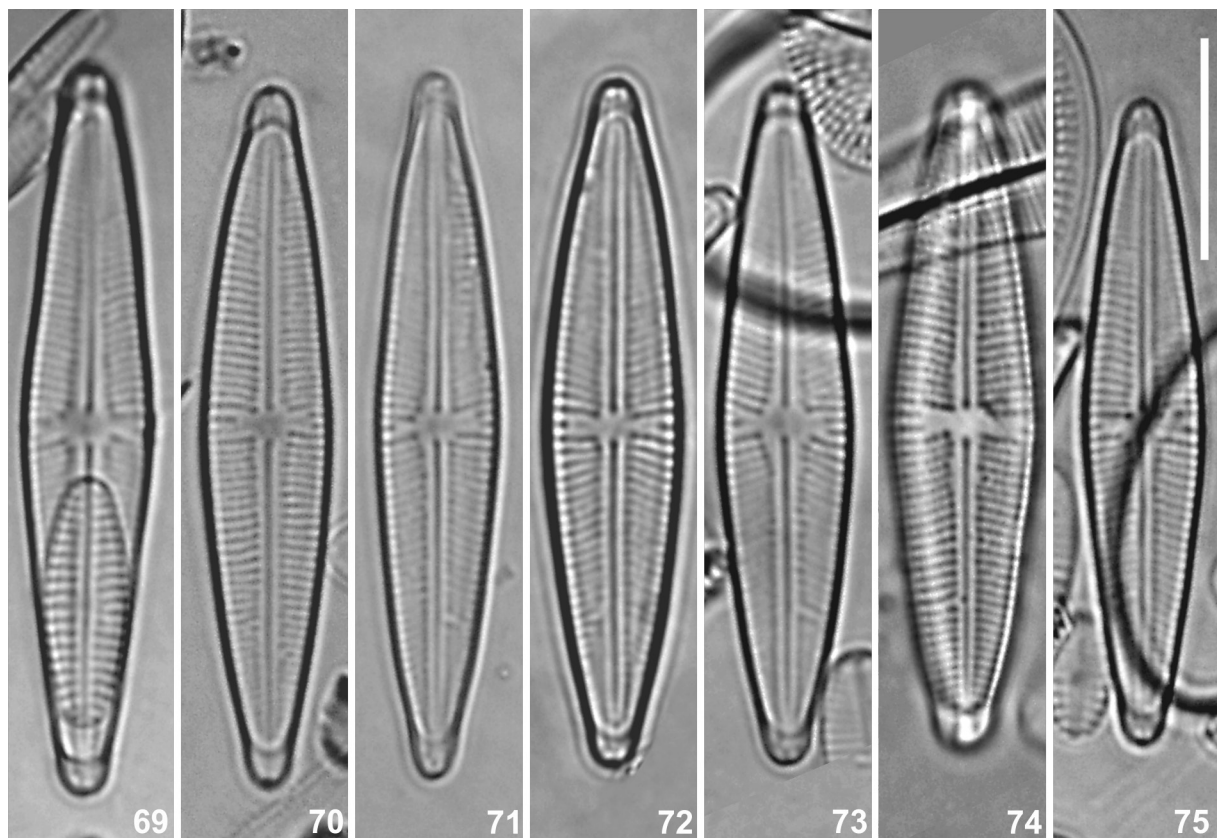
SEM (Figs 76–81): Externally, striae radiate, continuing onto the mantle. Areolae rounded to transapically elongate in the valve face and longitudinally elongated near the apices, 31–35 in 10 μm . Internally, areolae covered by hymenes (see Fig. 80). Internally and externally, the proximal raphe fissures are straight (Figs 78–79). External distal raphe endings hook-shaped to the secondary side, deflected in the same direction, continuing onto the mantle (Fig. 81). Internally, distinct, large pseudosepta present at each valve apex (Figs 77, 80).

Holotype: UPCB collection No. 78233 (here depicted in Fig. 72), deposited in (Paraná Federal University, Botany Department, Brazil).

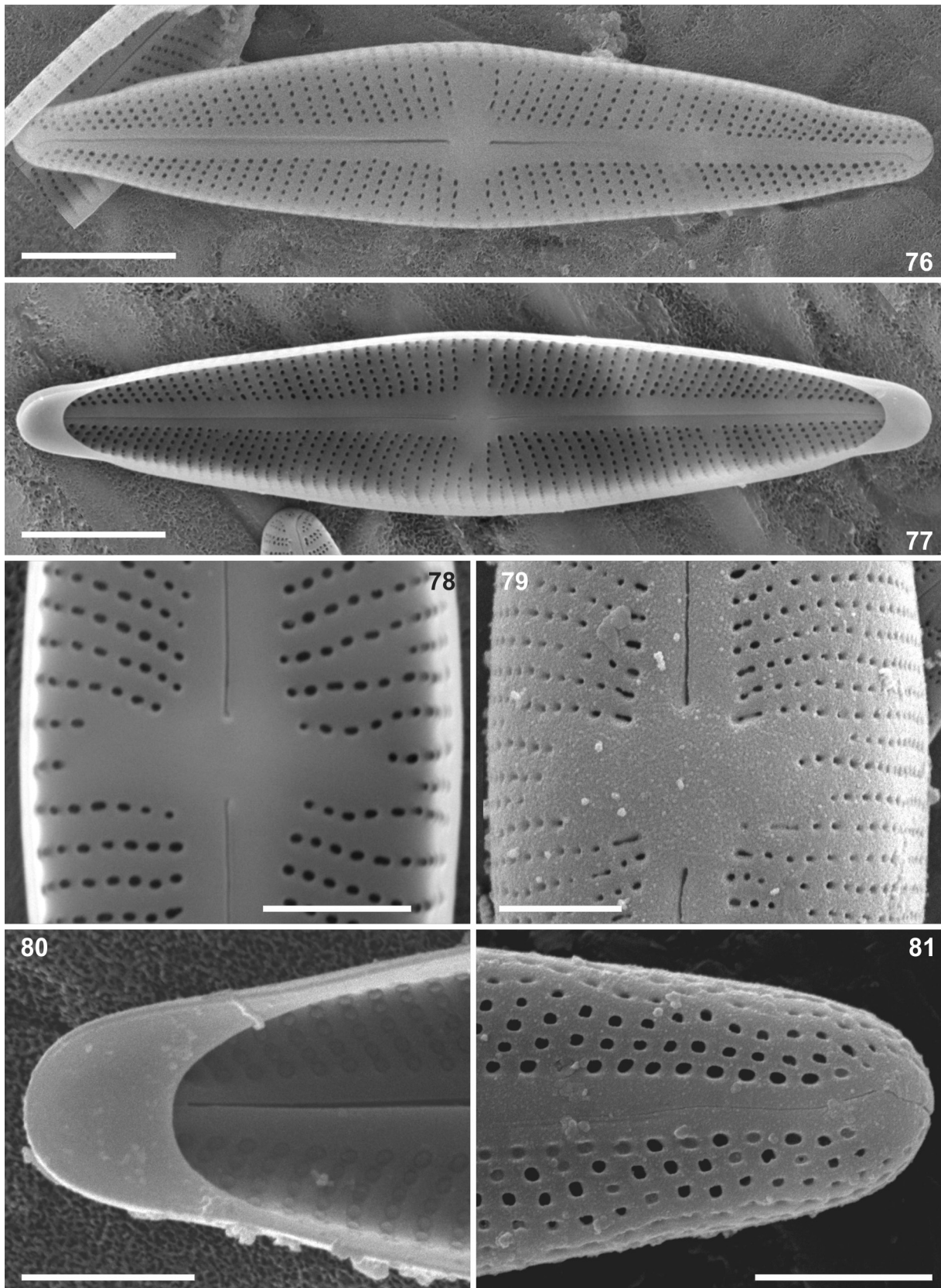
Type locality: Brazil. Mato Grosso do Sul: Jardim, Olho d'Água River, 21°26'12.6" S, 56°26'09.3" W, November 2015, E. Tusset s.n.

Habitat: periphytic (epiphyton) in lotic environments.

Etymology: The species was named in honor to the environment in which the species was found, the Brazilian Pantanal biome.



Figs 69–75. *Dorofeyukea pantanalensis* sp. nov., LM, valve views: (72) holotype specimen. Scale bar 10 μm .



Figs 76–81. *Dorofeyukea pantanalensis* sp. nov., SEM: (76–77) external and internal valve view, respectively; (78) internal view of median region of valve showing the narrow fascia slightly expanded to the valve margins; (79) external view of median region showing the proximal raphe endings; (80) internal view of valve apex, note the pseudosepta and areolae occlusion near the apex; (81) external view of valve apex, showing the distal raphe ending extending to the mantle. Scale bars 5 μm (76–77), 2 μm (78–81).

Ecology: *Dorofeyukea pantanalensis* was very rare in the type material. The population was observed in periphytic habitat (epiphyton) in lotic environment. It was found in neutral waters (pH 7.2), conductivity 320 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, and water temperature of 27 °C (Table 1).

Dorofeyukea pantanalensis is very distinct from any other *Dorofeyukea* species. Rhombic–lanceolate valves, prominent pseudosepta, records of valves with dimensions greater than 30 μm were only reported to *D. ivatoensis* (Metzeltin et Lange–Bertalot) Kulikovskiy et Kociolek, *D. rostellata* and *D. tenuipunctata* (Hustedt) Kulikovskiy et Kociolek, and they can be easily distinguished by the valve shape (Table S1).

Navicula septataeoides Hustedt, rarely reported in the literature, is described and illustrated (pl. 776, fig. 1749) by HUSTEDT (1961–1966) from Lago Alto Branco, Brazil, and it seems to be the taxon most related to *D. pantanalensis*. *Navicula septataeoides* presents prominent pseudosepta and radiate striae along the valve, differing by lacking the stauroid fascia, slightly expanded to the valve margins, and dimensions are much larger, length (73 μm long and 15 μm wide) in relation to *D. pantanalensis*.

D. pantanalensis presents wider valves, rhombic–lanceolate, acutely rounded apices, not protracted, while *D. bodoquenensis* has lanceolate valves with subrostrate ends (Table S1).

***Dorofeyukea texana* (Patrick) Kulikovskiy et Kociolek in KULIKOVSKIY et al. (2019) (Figs 82–99)**

Basionym: *Navicula texana* Patrick, PATRICK (1959): Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, 111: 98, pl. 8, fig. 5.

LM (Figs 82–93): Valves lanceolate, with subcapitate to rostrate ends. Valve dimensions (n=30): length 17.5–21.5 μm , width 4–5.6 μm . Narrow pseudosepta. Axial area narrow, linear. Raphe filiform. Proximal raphe endings straight, not expanded. Central area slightly asymmetric due to the varying number of short central striae ranging from one to three, most commonly two, forming narrow stauroid fascia bowtie-shaped, slightly expanded to the valve margins. Striae radiate, 20–24 in 10 μm . Areolae

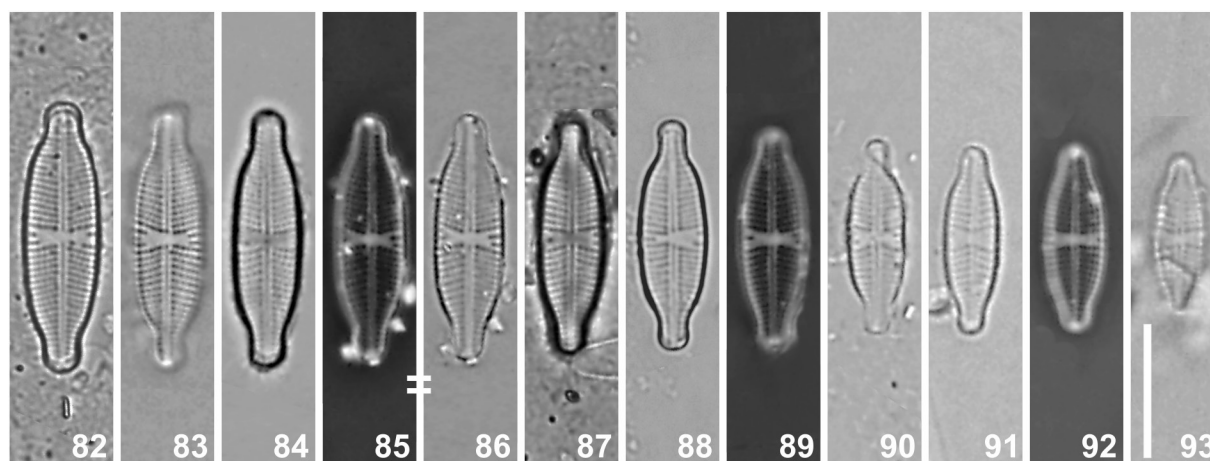
not discernible in LM.

SEM (Figs 94–99): Externally, striae uniseriate, continuing onto the mantle, radiate at the center becoming parallel towards the ends. Areolae transapically elongated in the valve face and longitudinally elongated near the apices, 33–35 in 10 μm . Internally areolae individually covered by hymenes (see Fig. 96). Externally, the proximal raphe fissures slightly deflected in the same direction (Fig. 97). Internally, distinct, narrow pseudosepta present at each valve apex (Fig. 98). External distal raphe endings hook-shaped to the secondary side, deflected, continuing onto the mantle (Fig. 99). Open girdle bands with one row of small pores (Figs 95, 99).

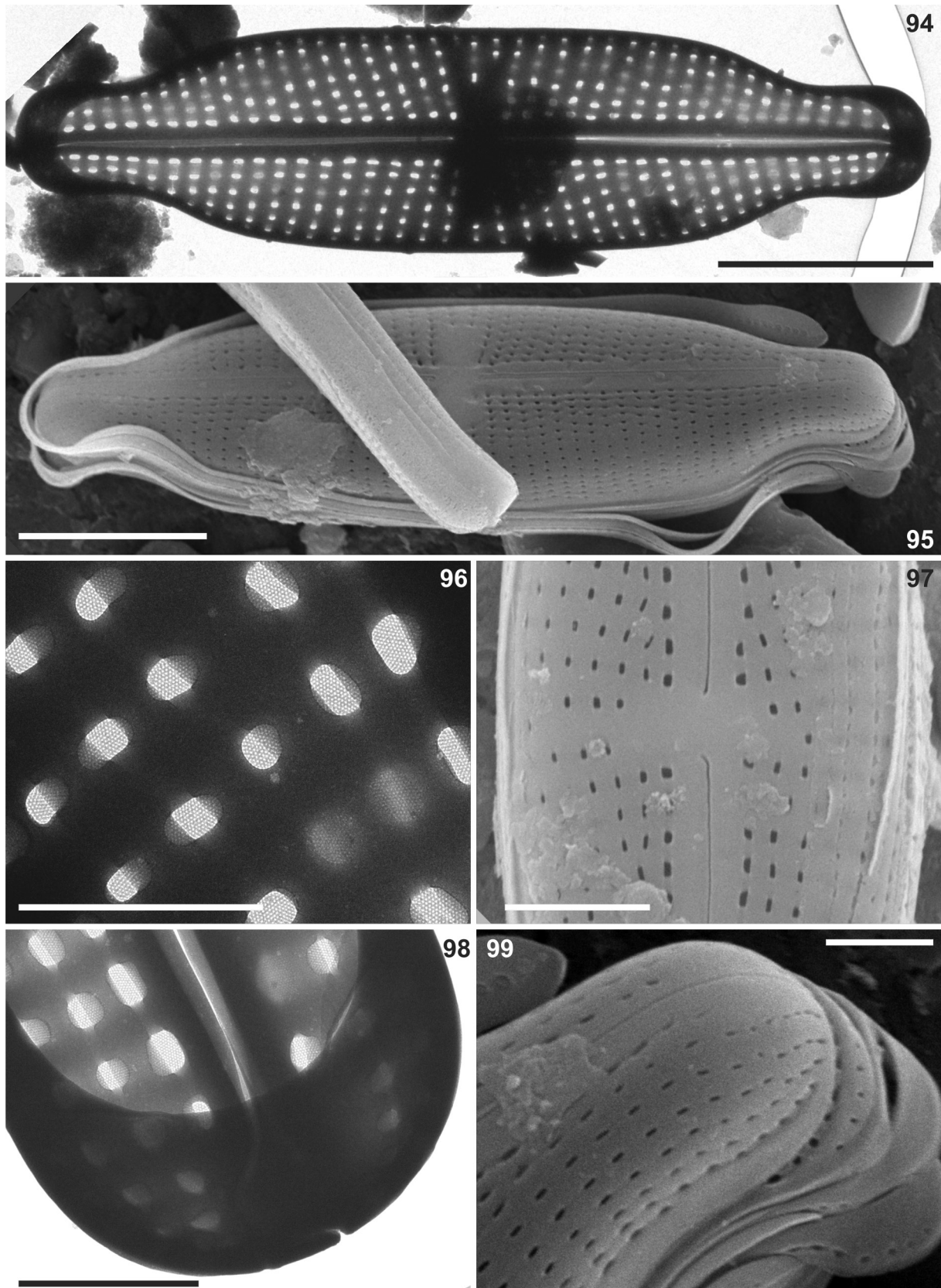
Occurrence in samples: Brazil. Mato Grosso do Sul: Bonito, Chapena waterfall, epiphyton, UPCB 78248; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epiphyton, UPCB 78428; Mato Grosso do Sul: Bonito, Blue Spring, epiphyton, ICN 203539.

Ecology: *Dorofeyukea texana* was very rare in the samples. The population was observed in periphytic habitat (epiphyton) in lotic environments. It was found in neutral to alkaline waters (pH 6.7–7.6), conductivity 382–669 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, water temperature 25–28 °C, N-NO₃ 0.10 mg.l⁻¹, Total P 0.01 mg.l⁻¹, Ca 60.6 mg.l⁻¹, Mg 39.1 mg.l⁻¹, SiO₂ 10.9 mg.l⁻¹ (Tables 1–2).

POTAPOVA (2013) investigated the type population of *Navicula texana* Patrick and *N. savannahiana* Patrick, currently included in *Dorofeyukea*. Both species present narrow capitate apices, punctate striae and transverse central area characteristic of *D. kotschyi*, but they differ in width and valve outline. POTAPOVA (2013) also observed a pseudoseptum at each distal valve end of *D. texana*, but she cannot confirm the existence of pseudosepta in *D. savannahiana* due to the rare occurrence of this species in the sample. Based on the illustrations presented by POTAPOVA (2013: Figs 81–87), we concluded that *D. savannahiana* has curve–radiate striae and transapically elongated areolae different from



Figs 82–93. *Dorofeyukea texana*, LM, (phase contrast in 85, 89, 92), valve views. Scale bar 10 μm .



Figs 94–99. *Dorofeyukea texana*, (94, 96, 98) TEM, (95, 97, 99) SEM: (94) valve overview showing the striation pattern; (95) external valve view; (96, 98) detail of areolae occlusion, note the hymens; (97) external view of median region of valve showing the narrow fascia slightly expanded to the valve margins; (98) view of valve apex, pseudosepta; (99) external view of valve and apex showing the girdle bands. Scale bars 5 μ m (94–95), 2 μ m (97), 1 μ m (96, 98–99).

D. texana that have parallel striae and punctiform or apically elongated areolae.

Distribution of *D. texana* (as *Navicula texana*) in North America: Laurentian Great Lakes (STOERMER, KREIS & ANDRESEN 1999), type locality Texas, freshwater with high mineral content, hard water (PATRICK & REIMER 1966), and United States of America (KOCIOLEK 2005, EBERLE 2008). It was also recorded from Asia: Korea (LEE, CHOI & LEE 1995, LEE 2012), Mongolia (DOROFYUK & KULIKOVSKIY 2012), and Russia (Far East) (MEDVEDEVA & NIKULINA 2014).

Dorofeyukea belongs to the stauroneioid diatom forming a single branch clade, together with *Stauroneis* Ehrenberg, *Prestauroneis* Bruder et Medlin, and *Craticula* Grunow, and it is frequently characterized as having a narrow stauroid fascia surrounded by few shortened striae. Also, species are represented by relatively small length cells, not exceeding 40 µm (KULIKOVSKIY et al. 2019; TRÁBERT et al. 2019). *Stauroneis* is a polyphyletic genus and further molecular and morphological investigation are needed (KULIKOVSKIY et al. 2019).

COX & WILLIAMS (2000) stated that in 1894, Cleve had already commented that species with different forms of thickening in the central area were placed in *Stauroneis*, and the stauros are used as diagnostic characteristic of this genus, and is easily recognized by light microscopy. Based on this supposed feature, the central area can be thickened in various ways and delimited by the shortening of striae (ROUND et al. 1990; KOCIOLEK et al. 2019; COX & WILLIAMS 2000; COX 2001; WADMARE et al. 2022).

Dorofeyukea kotschy was included in *Navicula* before. But, the isodiametric shape of the areolae is not characteristic of the apically elongated areolae of *Navicula* sensu stricto, as well as the pseudoseptum; therefore, these species should be placed in another genus (POTAPOVA 2013). The study of scanning electron microscopy (SEM) is often necessary to determine the taxonomic position of species, recent studies on several original materials have transferred some naviculoid species from *Navicula*, *Naviculadicta* Lange–Bertalot in Lange–Bertalot et Moser to another genus, as well as some taxa belonging to *Dorofeyukea*.

Twelve taxa use to be the total diversity of *Dorofeyukea*. We found two of them occurring in Brazilian karst, and four new species unknown so far, increasing the number of species in the genus *Dorofeyukea* to sixteen. The taxa were observed in periphytic habitat (epiphyton, epilithon, epipsammon) in lentic and lotic freshwater environments. The species *D. pantanalensis*, *D. texana*, and *D. bahlsii* were rare in this study, *D. pantanalensis* and *D. texana* occurred in only one sample while *D. bahlsii* in three. *Dorofeyukea bodoquenensis*, *D. calcarea*, and *D. kotschy* occurred in more than ten samples (Table 1).

Investigating diatom diversity occurring in these karst environments around the world, elevated richness is notable in Florida Everglades (LEE et al. 2013),

Croatia (JASPRICA & HAFNER 2005), Slovakia (CZERWIK–MARCINKOWSKA et al. 2018), Bosnia, Herzegovina, Croatia and Montenegro (HAFNER & JASPRICA 2013), Poland (WOJTAL 2003), Vietnam (WEIDE 2015), Mexico (NOVELO et al. 2007; IBARRA et al. 2009), Mediterranean (LAI et al. 2019), Spain (DELGADO et al. 2013), Italy (LAI et al. 2016). Some recent studies resulted in the description of new species of diatoms as in Croatia (GLIGORA UDOVIČ et al. 2022), China (YOU et al. 2016; YOU et al. 2019; LOWE et al. 2017), and Brazil (TUSSET et al. 2017, 2018). Therefore, new species proposals in this study were not surprising.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Electron Microscopy Centre (CME) of the Federal University of Paraná for SEM facilities and the assistance of staff members, and to Institute of Environment of Mato Grosso do Sul (IAMASUL) and the owners of the farms for the permission and assistance in the expeditions. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) provided the doctoral scholarship to EAT (141696/2019–2) and the productive grant to TAVL (311876/2019–6). This study was financed partially by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

REFERENCES

- APHA, A.W.W.A. (2012): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. – 22nd ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association.
- BARBER H.G. & HAWORTH E.Y. (1981): A guide to the morphology of the diatom frustule. – Freshwater Biological Association Scientific Publication 44: 1–112
- BOGGIANI, P.C.; TREVELIN, A.C.; SALLUN FILHO, W.; OLIVEIRA, E.C. & ALMEIDA, L.H.S. (2011): Turismo e conservação de tufas ativas da Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul. Pesquisas em Turismo e Paisagens Cársticas, Campinas, SETur/SBE. – Tourism and Karst Areas 4: 55–63.
- CLEVE, P.T. (1894): Synopsis of the naviculoid diatoms. – Kungliga Svenska vetenskapsakademiens handlingar 26: 1–194.
- COX, E.J. (2001): What constitutes a stauros? A morphogenetic perspective. – In: JAHN, R.; KOCIOLEK, J.P.; WITKOWSKI, A. & COMPÈRE, P. (eds): Festschrift für H. Lange–Bertalot. – pp. 303–316., A.R.G. Gantner Verlag, Ruggell.
- COX, E.J. & WILLIAMS, D.M. (2000): Systematics of naviculoid diatoms: the interrelationships of some taxa with a stauros. – European Journal of Phycology 35: 273–82. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670260010001735871>
- CZERWIK–MARCINKOWSKA, J.; WROBLEWSKI, W.; GRADZIŃSKI, M. & UHER, B. (2018): Diatom species diversity and their ecological patterns on different substrates in two karstic streams in the Slovak Karst. – Journal of cave and karst studies the National Speleological Society 80: 1–16. DOI: <http://dx.doi.org/10.4311/2017MB0124>
- DELGADO, C.; ECTOR, L.; NOVAIS, M.H.; BLANCO, S.; HOFFMANN, L. & PARDO, I. (2013): Epilithic diatoms of springs and springs–fed streams in Majorca Island (Spain) with the description of a new diatom species *Cymbopleura margalefii* sp. nov. – Fottea 13: 87–104. DOI: <http://dx.doi.org/10.5507/fot.2013.009>

- DOROFYUK, N. & KULIKOVSKIY, M. (2012): Diatoms of Mongolia. Proceedings of Joint Russian–Mongolian Complex Biological Expedition, Vol. 59. – 366 pp, Institute of Ecology and Evolution RAN, Moscow.
- EBERLE, M.E. (2008): Recent diatoms reported from the central United States: register of taxa and synonyms. – 88 pp., Department of Biological Sciences, Fort Hays State University, Hays, Kansas.
- FOGED, N. (1977): Freshwater diatoms of Ireland. – *Bibliotheca Phycologica* 34: 1–221.
- GUIRY, M.D. & GUIRY, G.M. (2021): AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.ORG>
- HAFNER, D. & JASPRICA, N. (2013): The composition of epiphytic diatoms (Bacillariophyta) on Charophyceae in Dinaric karstic ecosystems. – *Natura Croatica* 22: 199–204.
- HUSTEDT, F. (1937): Systematische und ökologische Untersuchungen über die Diatomeenflora von Java, Bali, und Sumatra nach dem Material der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition. Teil I. Systematischer Teil, Erste Fortsetzung. – *Archiv für Hydrobiologie, Suppl.* 15: 187–295.
- HUSTEDT, F. (1953): Diatomeen aus der Oase Gafsa in Südtunesien, ein Beitrag zur Kenntnis der Vegetation afrikanischer Oasen. – *Archiv für Hydrobiologie* 48: 145–153.
- HUSTEDT, F. (1961–1966): Die Kiesalgen. - In: RABENHORST, L. (ed.): Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Band VII (3, Lief. 2) von Dr. Friedrich Hustedt, Bremen, Reprint 1977. – 816 pp., Otto Koeltz Science Publishers, Koenigstein/West Germany.
- IBARRA, C.; TAVERA, R. & NOVELO, E. (2009): Diversidad y estructura de las comunidades de diatomeas del perifiton y el metafiton en un humedal tropical en México. – *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 763–769. DOI: <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2009.003.171>
- JASPRICA, N. & HAFNER, D. (2005): Taxonomic composition and seasonality of diatoms in three Dinaric karstic lakes in Croatia. – *Limnologica* 35: 304–319. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.limno.2005.08.003>
- JOHN, J. (2020): Diatoms from arid Australia: taxonomy and biogeography. The diatom flora of Australia Schmittgen – Oberreifenberg, Vol. 3. – 578 pp., Koeltz Botanical Books, Königstein.
- KOCIOLEK, J.P. (2005): A checklist and preliminary bibliography of the Recent, freshwater diatoms of inland environments of the continental United States. – *Proceedings of the California Academy of Sciences*. – Fourth Series 56: 395–525.
- KOCIOLEK, J.P.; WILLIAMS, D.M.; STEPANEK, J.; LIU, Q.; LIU, Y.; YOU, Q. M.; KARTHICK, B. & KULIKOVSKIY, M. (2019): Rampant homoplasy and adaptive radiation in pennate diatoms. *Plant Ecology and Evolution*. 152:131–41. DOI: <https://doi.org/10.5091/plecevo.2019.1612>
- KULIKOVSKIY, M.S.; ANDREEVA, S.A.; GUSEV, E.S.; KUZNETSOVA, I.V. & ANNENKOVA, N.V. (2016a): Molecular phylogeny of monoraphid diatoms and raphe significance in evolution and taxonomy. – *Biological Bulletin* 43: 398–407. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1062359016050046>
- KULIKOVSKIY, M.S.; GLUSHCHENKO, A.M.; KUZNETSOVA, I.V. & GENKAL, S.I. (2016b): Identification book of diatoms from Russia. *Filigran*, – 804 pp., Filigran, Yaroslavl.
- KULIKOVSKIY, M.S.; MALTSEV, Ye.I.; ANDREEVA, S.A.; GLUSHCHENKO, A.M.; GUSEV, E.S.; PODUNAY, YU.A.; LUDWIG, T.V.; TUSSET, E. & KOCIOLEK, J.P. (2019): Description of a new diatom genus *Dorofeyukea* gen. nov. with remarks on phylogeny of the family Stauroneidaceae. – *Journal of Phycology* 55: 173–185. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpy.12810>
- LAI, G.G.; PADEDDA, B.M.; WETZEL, C.E.; LUGLIÈ, A.; SECHI, N. & ECTOR, L. (2016): Epilithic diatom assemblages and environmental quality of the Su Gologone karst spring (central–eastern Sardinia, Italy). – *Acta Botanica Croatica* 75: 129–143. DOI: <https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0008>
- LAI, G.G.; BURATO, S.; PADEDDA, B.M.; ZORZA, R.; PIZZUL, E.; DELGADO, C.; LUGLIÈ, A. & CANTONATI, M. (2019): Diatom Biodiversity in Karst Springs of Mediterranean Geographic Areas with Contrasting Characteristics: Islands vs Mainland. – *Water* 11: 2602. DOI: <https://doi.org/10.3390/w11122602>
- LEE, K.; CHOI, J.K. & LEE, J.H. (1995): Taxonomic studies on diatoms in Korea. II. Check-list. – *Korean Journal of Phycology* 10: 13–89.
- LEE, J.H. (2012): Algal flora of Korea. Chrysophyta: Bacillariophyceae: Pennales: Raphidinea: Naviculaceae. Freshwater diatoms VI. – pp. 1–56, National Institute of Biological Resources, Incheon.
- LEE, S. S.; TOBIAS, F. A. & VAN DE VIJVER, B. (2013): *Envekadea metzeltinii* sp. nov., a new diatom (Bacillariophyta) species from the subtropical karstic wetlands of the Florida Everglades, USA. – *Phytotaxa* 115: 15–24. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.115.1.2>
- LINO, C.F.; BOGGIANI, P.C.; CORTESÃO, J.; GODOY, N.M. & KARMANN, I. (1984): Projeto Grutas de Bonito. Diretrizes para um plano de manejo turístico. – 212 pp, SPHAN/MS–TUR, Campo Grande.
- LIU, B.; XIANG, D.; QUAN, S.; LONG, H. & YALUN, M. *Dorofeyukea kotschy* (Grunow) Kulikovskiy, Kociolek, Tusset & T. Ludwig (2020): a new genus and species record from China. – *Acta Botanica Boreali–Occidentalia Sinica* 40: 353–357. DOI: <https://doi.org/10.7606/j.issn.1000-4025.2020.02.0353>
- LOWE, R.; KOCIOLEK, J.P.; YOU, Q.M.; WANG, Q.X. & STEPANEK, J. (2017): Diversity of the diatom genus *Humidophila* in karst areas of Guizhou, China. – *Phytotaxa* 305: 269–284. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.305.4.3>
- MEDVEDEVA, L.A. & NIKULINA, T.V. (2014): Catalogue of freshwater algae of the southern part of the Russian Far East. Vladivostok: Dalnauka. 271 pp.
- METZELTIN, D. & LANGE–BERTALOT, H. (1998): Tropical Diatoms of South America I: About 700 predominantly rarely known or new taxa representative of the neotropical flora. – In: LANGE–BERTALOT, H. (ed.): *Iconographia Diatomologica* 5. – 695 pp., Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany.
- METZELTIN, D. & LANGE–BERTALOT, H. (2002): Diatoms from the “Island Continent” Madagascar. – *Iconographia Diatomologica* 11: 1–286
- MOREIRA–FILHO, H. & VALENTE–MOREIRA, I.M. (1981): Avaliação taxonômica e ecológica das diatomáceas (Bacillariophyceae) epífitas em algas pluricelulares obtidas nos litorais dos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. – *Boletim do Museu Botânico Municipal* 47: 1–17.
- NOVELO, E.; TAVERA, R. & IBARRA, C. (2007): Bacillariophyceae from karstic wetlands in Mexico. – *Bibliotheca Diatomologica* 54: 1–136.
- PATRICK, R.M. (1959): New species and nomenclatural changes in the genus *Navicula* (Bacillariophyceae). – *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*

- 111: 91–108.
- PATRICK, R.M. & REIMER, C.W. (1966): The Diatoms of the United States exclusive of Alaska and Hawaii. Volume 1. Fragilariaceae, Eunotiaceae, Achnanthaceae, Naviculaceae. – Monographs of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 13: 1–688.
- POTAPOVA, M. (2013): The types of 22 *Navicula* (Bacillariophyta) species described by RUTH PATRICK. – Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 162: 1–23. DOI: <http://dx.doi.org/10.1635/053.162.0101>
- ROUND, F.E.; CRAWFORD, R.M. & MANN, D.G. (1990): The diatoms. Biology and morphology of the genera. – 747 pp., Cambridge University Press, Cambridge.
- RUMRICH, U.; LANGE–BERTALOT, H. & RUMRICH, M. (2000): Diatoms of the Andes. From Venezuela to Patagonia/Tierra del Fuego and two additional contributions. – In: LANGE–BERTALOT, H. (ed.): – Iconographia Diatomologica, Annotated Diatom Monographs. Phytogeography–Diversity–Taxonomy, Vol 9. – 673 pp., Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany.
- SALLUN FILHO, W.; KARMANN, I. & BOGGIANI, P.C. (2004): Paisagens cársticas da Serra da Bodoquena (MS). – Geologia do Continente Sul–Americano 1: 424–433.
- SALLUN FILHO, W.; KARMANN, I.; BOGGIANI, P.C.; PETRI, S.; DE SOUZA CRISTALLI, P. & UTIDA, G. (2009): A deposição de tufas quaternárias no estado de Mato Grosso do Sul: proposta de definição da formação Serra da Bodoquena. – Geologia USP, Série Científica 9: 47–60. DOI: <https://doi.org/10.5327/Z1519–874x2009000300003>
- SILVA, W.J.; NOGUEIRA, I.S. & SOUZA, M.G.M. (2011): Catálogo de diatomáceas da região Centro–Oeste brasileira. – Iheringia, Série Botânica 66: 61–86.
- SIMONSEN, R. (1974): The diatom plankton of the Indian Ocean expedition of R/V “Meteor” 1964–1965. – Meteor Forsch. Ergebnisse, Reihe D. 19: 1–107.
- STOERMER, E.F.; KREIS, R.G. & ANDRESEN, N.A. (1999): Checklist of Diatoms from the Laurentian Great Lakes. II. – Journal of Great Lakes Research 25: 515–566. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0380–1330\(99\)70759–8](https://doi.org/10.1016/S0380–1330(99)70759–8)
- STOYNEVA–GÄRTNER, M.P. & DESCY, J.P. (2020): Checklist of cyanoprokaryotes and algae in the large tropical River Congo (Africa). – Faculty of Biology 104: 18–57.
- TABOADA, M.D.L.Á.; MIRANDA, M.J. & GAVRILOFF, I.J. (2021): Primer relevamiento de la riqueza algal de una laguna de montaña del Noroeste Argentino. – Bonplandia 30: 37–60. DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/bon.3014589>.
- TRÁBERT, Z.; BUCZKÓ, K.; BORICS, G.; UDOVIC, M.G.; KARTHICK, B.; ECTOR, L.; FÖLDI, A.; KISS, K.T. & ÁCS, É. (2019): Biogeography and morphology of a poorly known diatom *Dorofeyukea rostellata* (Hustedt) Kulikovskiy & Kociolek. – Limnetica 38: 743–758. DOI: <https://doi.org/10.23818/limn.38.43>
- TREMARIN, P.I.; FREIRE, E.G.; BERTOLLI, L.M. & LUDWIG, T.A.V. (2009): Catálogo das diatomáceas (Ochrophyta–Diatomeae) continentais do estado do Paraná. – Iheringia, Série Botânica 64: 79–107.
- TUSSET, E.A.; TREMARIN, P.I.; STRAUBE, A. & LUDWIG, T.A. (2017): Morphology of *Adlafia* taxa (Bacillariophyta, Cymbellaceae), with proposition of two new species from Brazil. – Phytotaxa 306: 259–274. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.306.4.2>
- TUSSET, E.A.; TREMARIN, P.I. & LUDWIG, T.A. (2018): Two new *Stauroneis* species (Bacillariophyta, Stauroneidaceae) from midwestern karstic Brazilian formations. – Phytotaxa 358: 265–277. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.358.3.4>
- UDOVIČ, M.G.; KULAŠ, A.; ŠUŠNJARA, M.; ARAPOV, J.; BLANCO, S. & LEVKOV, Z. (2022): *Cymboppleura amricula* stat. nov. et. nom. nov. (Bacillariophyceae): a rare diatom species from a karst river in Croatia. – Phytotaxa 532: 139–151. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.532.2.2>
- WADMARE, N.; BAGHELA, A.; KOCIOLEK, J.P. & KARTHICK, B. (2022): Description and phylogenetic position of three new species of *Stauroneis* Ehrenberg (Bacillariophyceae: Stauroneidaceae) from the Indian Subcontinent. – European Journal of Phycology 57: 48–67. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670262.2021.1888390>
- WEIDE, D.M. (2015): *Aulacoseira stevensiae* sp. nov. (Coscinodiscophyceae, Bacillariophyta), a new diatom from Ho Ba Bê, Bac Kan Province, Northern Việt Nam. – Diatom Research 30: 263–268. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/0269249X.2015.1074114>
- WOJTAL, A. (2003): Diatoms of the genus *Gomphonema* Ehr. (Bacillariophyceae) from a karstic stream in the Krakowsko–Czestochowska Upland. – Acta Societatis Botanicorum Poloniae 72: 213–220. DOI: <https://doi.org/10.5586/asbp.2003.028>
- YOU, Q.M.; KOCIOLEK, J.P.; YU, P.; CAI, M.J.; LOWE, R.L. & WANG, Q.X. (2016): A new species of *Simonsenia* from a karst landform, Maolan Nature Reserve, Guizhou Province, China. – Diatom Research 31: 269–275. DOI: <https://doi.org/10.1080/0269249X.2016.1227377>
- YOU, Q.; CAO, Y.; YU, P.; KOCIOLEK, J.P.; ZANG, L.; WU, B.; LOWE, R., & WANG, Q. (2019): Three new subaerial *Achnantheidium* (Bacillariophyta) species from a karst landform in the Guizhou Province, China. – Fottea 19: 138–150. DOI: <https://doi.org/10.5507/fot.2019.005>

Supplementary material

The following supplementary material is available for this article:

Table S1. Morphometric data of the Brazilian population and related *Dorofeyukea* species.

This material is available as part of the online article (<http://fottea.czechphycology.cz/contents>)

© Czech Phycological Society (2023)

Received February 18, 2022

Accepted May 26, 2022

Capítulo 3. Three new *Simonsenia* species (Bacillariophyta) from Brazil

As páginas do referido manuscrito foram suprimidas para a presente versão parcial da tese. O artigo foi aceito para publicação no periódico *Fottea* no ano de 2023.

Referência completa: Tusset, E.A., Tremarin, P.I., Maciel, M.G.R., Cavalcante, K.P., Ludwig, T.A.V. and Cardoso, L.S. Three new *Simonsenia* species (Bacillariophyta) from Brazil. *Fottea*

Capítulo 4. *Fragilaria brasiliensis* sp. nov., a new diatom (Bacillariophyta) species from karstic formation in Brazil

As páginas do referido manuscrito foram suprimidas para a presente versão parcial da tese. O artigo será submetido para publicação no periódico Phycological Research.

Considerações finais

A proposta inicial desta tese era realizar uma análise em duas áreas cársticas brasileiras, a primeira localizada no carste da Serra da Bodoquena, no estado do Mato Grosso do Sul em 2019 e a segunda no carste de Lagoa Santa, Minas Gerais em 2020. O objetivo era realizar comparações taxonômica e ecológicas com as comunidades de diatomáceas das duas formações cársticas. O que não contávamos, era com a primeira pandemia causada por um coronavírus COVID-19, a princípio acreditávamos que duraria alguns dias, meses, mas a realidade foram anos, com exceção do primeiro ano de doutorado, onde foram realizadas as disciplinas e a coleta no estado do Mato Grosso do Sul, os outros três anos foram realizados na pandemia. Com o fechamento de espaços públicos entre as Universidade e Parques Estaduais e Federais, aeroportos, tivemos que nos adequar às condições impostas, a coleta de 2020 tivemos que adiar para 2021 a 2022, e ficamos impossibilitados de realizar a coleta no carste de lagoa Santa, por falta de tempo hábil para processar os dados que seriam coletados neste local e terminar a tese dentro do prazo. E assim, decidimos que teríamos material suficiente para continuarmos trabalhando, e realizar as publicações, na rotina do laboratório foram implementadas medidas, escala para que os alunos permanecessem trabalhando, compartilhando os microscópios, higienizando equipamentos, utilizando máscaras de proteção e realizando frequentemente testes de COVID para segurança de todos. Mesmo com todas as restrições, a pesquisa não foi interrompida e apenas adequada à realidade imposta. O presente estudo foi uma contribuição para o conhecimento da diatomoflórula epifíticas, epilíticas, fitoplanctônicas e episâmica em diferentes ambientes cársticos na formação Serra da Bodoquena, localizada no estado de Mato Grosso do Sul. Este estudo foi o primeiro levantamento de diatomáceas dentro do Parque da Serra da Bodoquena.

Atualmente, o Geopark Bodoquena Pantanal está localizado na região centro oeste do Brasil, possui uma área de 39.000 km² e abrange os municípios de Anastácio, Aquidauana, Bela Vista, Bodoquena, Bonito, Caracol, Corumbá, Guia Lopes da Laguna, Jardim, Ladário, Miranda, Nioaque e Porto Murtinho. A proposição de criação do geoparque se deve ao interesse geomorfológico, tectônico, estratigráfico, sedimentológico, paleontológico, espeleológico, mineralógico e hidrogeológico que revelam a importante Geodiversidade do território. Na ocasião das coletas, apenas pesquisadores, funcionários e brigadistas do ICMbio e IMASUL possuíam permissão para adentrar ao parque, que se encontrava em fase de preparação e construção de deques, abertura de trilhas e a capacitação e formação de condutores para receber o público em geral no parque.

Considerando o crescente número de artigos científicos publicados recentemente, os ambientes cársticos ainda são estudados, em maior representatividade no âmbito internacional, com a proposição de espécies e gêneros novos. No Brasil, áreas cársticas representam cerca de 6 % do território

nacional, existindo assim muito a ser conhecido sobre a composição da comunidade diatomológica. O Capítulo 1 foi a maior contribuição em biodiversidade para a flora de diatomáceas, citadas para o estado do Mato Grosso do Sul até o presente momento.

O material depositado nos Herbários ICN da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e UPCB da Universidade Federal do Paraná ampliaram a coleção de diatomáceas de águas continentais brasileiras. Em suma, os estudos realizados aqui forneceram um arcabouço consistente de informações sobre morfologia, distribuição, ocorrência e fatores ambientais relacionados às diatomáceas, além de divulgar as atualizações nomenclaturais decorrentes de recentes revisões ocorridas, as quais serviram de base para futuros estudos (sistemáticos, ultraestruturais, moleculares, biogeográficos), e conseqüentemente, contribuindo com o desenvolvimento e conhecimento das algas no país.

Futuramente pretendemos realizar uma publicação com os dados ecológicos, utilizando dados de abundância das contagens de valvas das 59 amostras, pois os mesmos foram previamente analisados durante a realização da disciplina de Análise Ecológica de População e Comunidade do Fitoplâncton Continental. A continuidade nos estudos sobre a flora de diatomáceas na região da Serra da Bodoquena e do Parque Nacional da Serra da Bodoquena, abrangendo diferentes microhabitats (ambientes subaéreos, fitotelmatas, corpos d'água, rochas, sedimentos, macrófitas e plantas aquáticas) faz-se ainda necessária por se tratar de importante hotspot de transição entre os biomas Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal, além de ser considerada área de preservação prioritária no estado do Mato Grosso do Sul.