



Evento: XXVI Jornada de Pesquisa

NICHO ECOLÓGICO E ANÁLISE FILOGENÉTICA DE *Eriocaulon* L. UTILIZANDO O GENE *rpoC1*¹

ECOLOGICAL NICHE AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *Eriocaulon* L. USING THE *rpoC1* GENE

Liziane Kraemer², Juliana Maria Fachineto³

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

² Aluna do Curso de Mestrado em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da UNIJUI, bolsista PROSUC-CAPES, lizy_kraemer@hotmail.com

³ Professora Doutora do Mestrado em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da UNIJUI, orientadora, juliana.fachineto@unijui.edu.br

RESUMO

A conservação das espécies exige o conhecimento detalhado sobre sua história natural e sua biologia, além de informações sobre a sua distribuição geográfica e seu potencial de ocorrência. Assim, com o surgimento das técnicas de biologia molecular, dados moleculares se tornaram os principais alvos de pesquisas evolutivas tanto para inferir a evolução das espécies quanto dos genes. Na botânica, o uso do método cladístico e as novas tecnologias disponíveis para as análises filogenéticas e biogeográficas estão mudando o panorama da visão interna de várias famílias botânicas, como é o caso da família Eriocaulaceae que compreende aproximadamente 1.400 espécies distribuídas em 10 gêneros. A maioria das espécies de Eriocaulaceae ocorrem em solos arenosos úmidos ou secos, mas as espécies de *Eriocaulon* são aquáticas ou de locais pantanosos. O trabalho foi constituído por análise computacional, sendo escolhido o gene *rpoC1* para comparação entre as espécies de *Eriocaulon*. Para a modelagem de nicho ecológico foram realizadas buscas da distribuição geográfica de cada espécie, utilizando o site Global Biodiversity Information Facility. Foram selecionadas 15 sequências de DNA para a construção das árvores, e o grupo externo escolhido foi *Syngonanthus angolensis*. Observando os resultados foi possível identificar que o gênero é monofilético, com exceção das espécies *Eriocaulon sexangulare* e *Eriocaulon australe*, que estão próximas geograficamente.

Palavras-chave: Botânica. Filogenia. Eriocaulaceae.

ABSTRACT

The conservation of species requires detailed knowledge about their natural history and biology, as well as information about their geographical distribution and their potential for occurrence. Thus, with the emergence of molecular biology techniques, molecular data became the main targets of evolutionary research both to infer the evolution of species and genes. In botany, the use of the cladistic method and the new technologies available for phylogenetic and biogeographic analyses are changing the panorama of the internal view of several botanical families, as is the case of the family Eriocaulaceae comprising approximately 1,400 species



distributed in 10 genera. Most species of Eriocaulaceae occur in moist or dry sandy soils, but *Eriocaulon* species are aquatic or from swampy sites. The work consisted of computational analysis, and the rpoC1 gene was chosen for comparison between *Eriocaulon* species. For the ecological niche modeling, searches were made of the geographical distribution of each species, using the Global Biodiversity Information Facility website. 15 DNA sequences were selected for tree construction, and the external group chosen was *Syngonanthus angolensis*. Observing the results, it was possible to identify that the genus is monophyletic, with the exception of the species *Eriocaulon sexangulare* and *Eriocaulon australe*, which are geographically close.

Keywords: Botany. Phylogeny. Eriocaulaceae.

INTRODUÇÃO

A conservação das espécies exige o conhecimento detalhado sobre sua história natural e sua biologia, além de informações sobre a sua distribuição geográfica e seu potencial de ocorrência (PAPES & GAUBERT, 2007). A modelagem preditiva de distribuição geográfica vem se tornando uma ferramenta importante em estudos de ecologia e conservação, incluindo o prognóstico dos efeitos das mudanças climáticas sobre a biodiversidade e planos para conservação de espécies ameaçadas (NABOUT et al., 2009).

Aliado a isto, temos as análises filogenéticas que têm tido a crescente aplicação em estudos biogeográficos (RANDO, 2014). Com o surgimento das técnicas de biologia molecular, dados moleculares se tornaram os principais alvos de estudos evolutivos tanto para inferir a evolução das espécies quanto dos genes. E, desde o advento das técnicas de sequenciamento de DNA, as sequências de biomoléculas, como de DNA ou de proteína, têm sido as principais fontes de dados para os estudos filogenéticos e vêm auxiliando na elucidação de várias questões biológicas, como aquelas relacionadas às áreas da sistemática, forense e epidemiológica (SAKAMOTO, 2016).

Na botânica, o uso do método cladístico e as novas tecnologias disponíveis para as análises filogenéticas e biogeográficas estão mudando o panorama da visão interna de várias famílias (BRUNIERA, 2010), como é o caso da família Eriocaulaceae Mart., a qual compreende aproximadamente 1.400 espécies distribuídas em 10 gêneros (GIULIETTI et al. 2012). A maioria das espécies de Eriocaulaceae ocorrem em solos arenosos úmidos ou secos, de pH ácido, mas as espécies de *Eriocaulon* L. são aquáticas ou de locais pantanosos, possuindo uma distribuição subtropical, o qual inclui 500 espécies em cinco continentes (GIULIETTI et al. 2016). Assim, esta pesquisa teve por objetivo realizar uma análise cladística para *Eriocaulon*,



verificando as relações filogenéticas das espécies utilizando o gene *rpoC1*, assim como a elaboração de modelos da distribuição potencial das mesmas, comparando se a proximidade filogenética é em decorrência da proximidade geográfica.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi constituído por análise computacional, compreendendo buscas no site National Center for Biotechnology Information – NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>), sendo escolhido o gene *rpoC1* para comparação entre todas as espécies de *Eriocaulon* que possuíam registro no banco de dados.

Após o download das sequências de DNA, procedeu-se o alinhamento das mesmas e a construção das árvores filogenéticas utilizando o software MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (KUMAR et al., 2018), sendo geradas árvores de Maximum Likelihood (Máxima Verossimilhança), com o modelo T92+G, e Maximum Parsimony (Máxima Parcimônia) utilizando o método de Bootstrap com 1000 replicações para cada. Para as árvores serem consideradas mais precisas, foi selecionado um corte de 50% nas mesmas, mantendo só os ramos que obtiveram valor superior a este para formar a árvore.

Para a modelagem de nicho ecológico foram realizadas buscas da distribuição geográfica de cada espécie, utilizando o site Global Biodiversity Information Facility (<https://www.gbif.org/>), com a aplicação dos filtros de “presente” para o status de ocorrência, nome científico da espécie e coordenadas na localização. Após realizado o download dos resultados da pesquisa, foi montada uma tabela para cada espécie com base nos dados coletados que foram: país, estado, cidade, local, latitude em decimais, longitude em decimais, ano, mês e dia.

Para a criação dos mapas de distribuição geográfica das espécies foram utilizados dois softwares que relacionam a presença destas com características do ambiente. O primeiro é o DIVA-GIS (HIJMANS et al., 2012), e o segundo, o Maxent (Maximum Entropy) (PHILLIPS et al.).

Dos downloads realizados no site Global Biodiversity Information Facility, utilizou-se somente as coordenadas para a construção dos mapas. Os dados ambientais utilizados foram o de bioclima, sendo obtido a partir do download realizado no site do DIVA-GIS (<http://www.diva-gis.org/climate>). Já o contorno dos países para a construção do mapa



também teve sua origem a partir do download no site do DIVA-GIS (<http://www.diva-gis.org/Data>).

Após todos os passos no software do DIVA-GIS, um arquivo era exportado, para ser usado no software MaxEnt, assim gerando os mapas da distribuição das espécies.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionadas 15 sequências de DNA do gene *rpoC1* para a construção das árvores. Como grupo externo foi escolhido *Syngonanthus angolensis* H.E.Hess, por pertencer à mesma família e estar próximo filogeneticamente do gênero em estudo.

O gene *rpoC1* é do tipo plastidial e é responsável por codificar subunidades da RNA polimerase plastidial (PEP), uma enzima de núcleo semelhante à de bactérias (SERINO & MALIGA, 1998). Este gene é adequado para análises filogenéticas, e além disso, a combinação de três marcadores, o *rpoC1*, o *rpoB* e o *matk*, pode ser utilizada como códigos de barra de DNA para as plantas (CHASE et al., 2007). Sendo que Cemin (2012) relata a importância da utilização de códigos de barra de DNA como ferramenta para identificação de espécies.

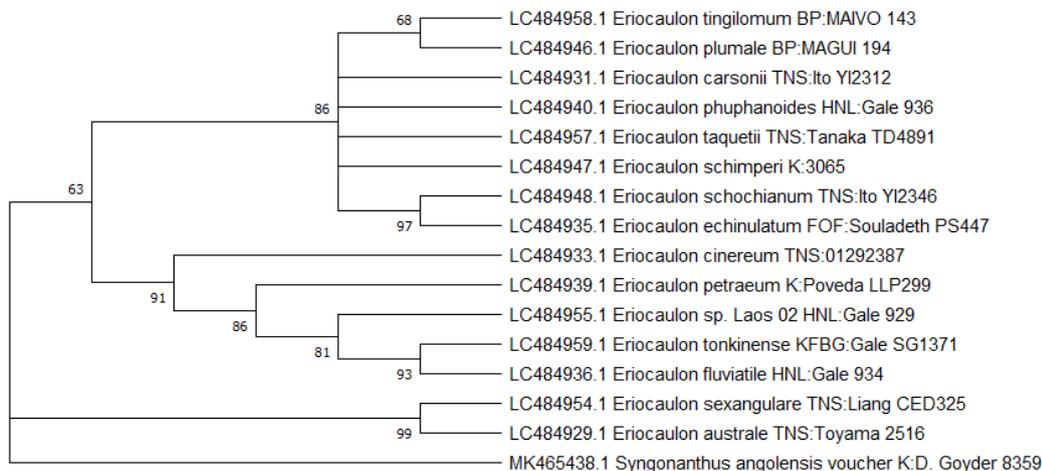
Com o alinhamento das sequências pode-se obter informações referentes ao gene: foi encontrado um total de 832 sítios, destes 709 estavam conservados, 122 eram variáveis e 41 foram parcimoniosamente informativos, que são os que apresentam mutação em um determinado sítio em mais de uma sequência incluída na análise (MIYAKI et al., 2001).

Observando as árvores filogenéticas geradas foi possível notar que em ambos os métodos de análise (Máxima Verossimilhança e Máxima Parcimônia) a relação entre as espécies foi semelhante. A maioria das espécies do gênero formaram um grupo monofilético, exceto para duas espécies, sendo que estas se encontram como clados irmãos. Destacam-se principalmente as espécies *Eriocaulon sexangulare* L. e *Eriocaulon australe* R.Br., que estiveram próximas em 99% das repetições, porém, não agrupadas com as demais espécies do gênero (FIGURAS 1 e 2).

As espécies *E. sexangulare* e *E. australe* se encontram no sudeste asiático, se estendendo até a Oceania (FIGURA 3), o que justifica sua proximidade no cladograma, porém, não justifica a distância das demais espécies, visto que a maioria destas se encontram em locais próximos.

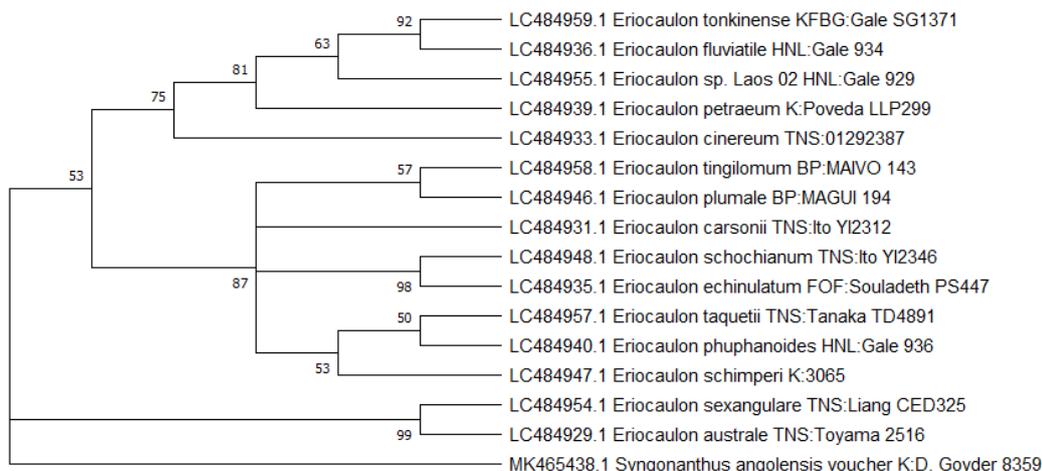


Figura 1 - Árvore de Máxima Verossimilhança para o gene *rpoC1*



Fonte: do autor

Figura 2. Árvore de Máxima Parcimônia para o gene *rpoC1*

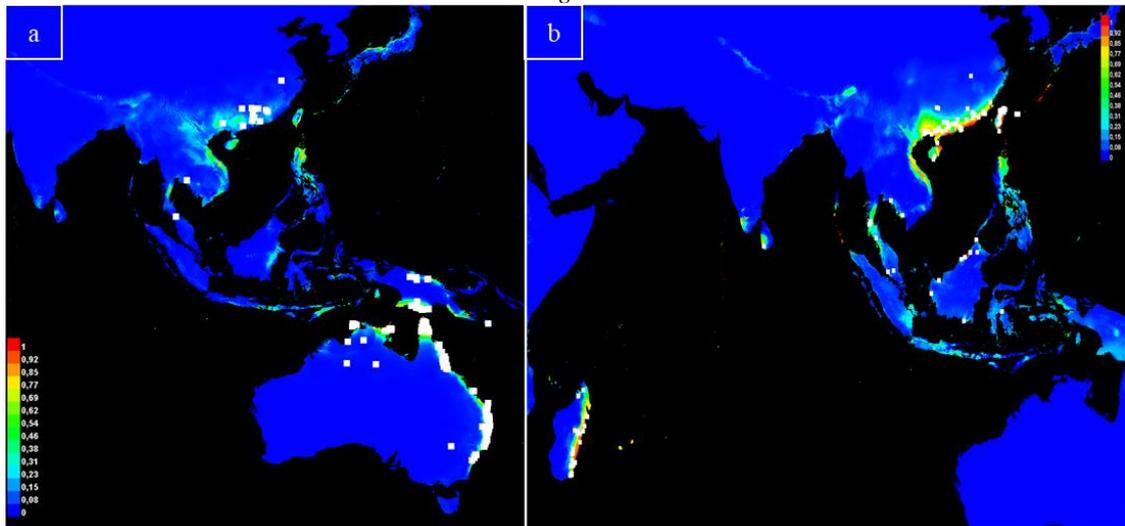


Fonte: do autor

O grupo monofilético apresentado nos cladogramas se ramifica em dois agrupamentos, compostos pelas mesmas espécies em ambas as árvores filogenéticas. Analisando os mapas gerados, pode-se observar que o maior agrupamento é composto por espécies que se encontram na África, Ásia e Oceania (FIGURA 4), o que explica estas estarem no mesmo grupo, da mesma forma que justifica a ocorrência de *Eriocaulon echinulatum* Mart. e *Eriocaulon schochianum* Hand.-Mazz. como clados irmãos em 98% das repetições, pois estas espécies se localizam próximas geograficamente. No entanto, o menor agrupamento gerado apresenta espécies dos mesmos locais citados anteriormente, além de *Eriocaulon cinereum* R.Br. que possui uma distribuição global (FIGURA 5).

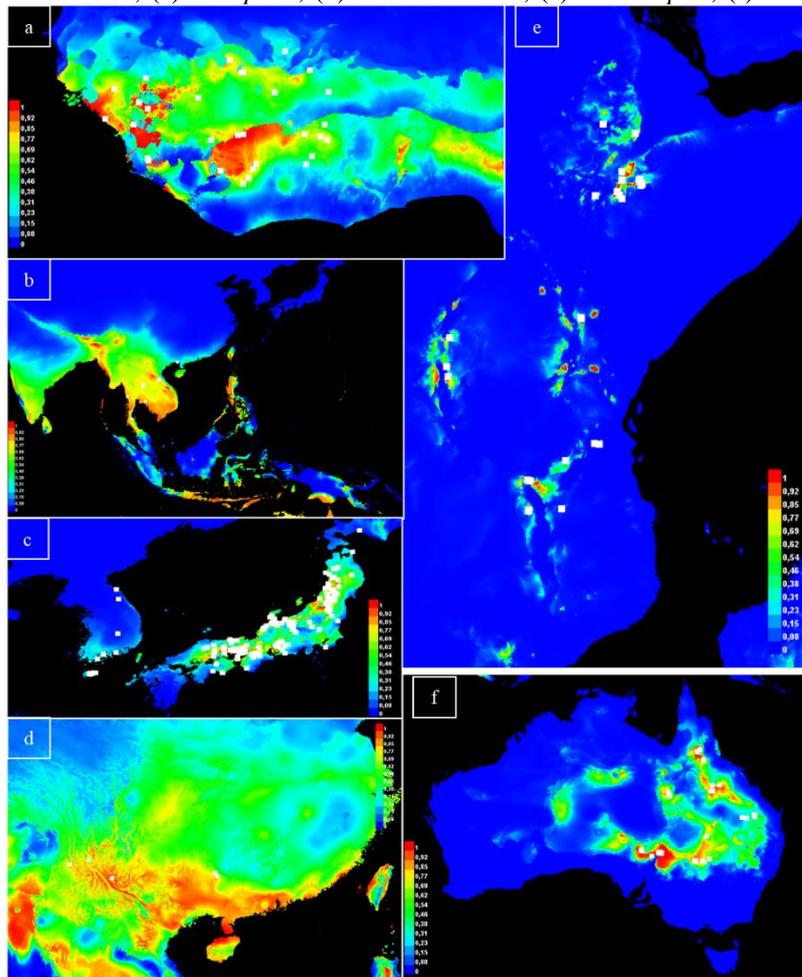


Figura 3. Mapas da modelagem preditiva de distribuição das espécies de *Eriocaulon*. (a) *E. australe*; (b) *E. sexangulare*.



Fonte: do autor

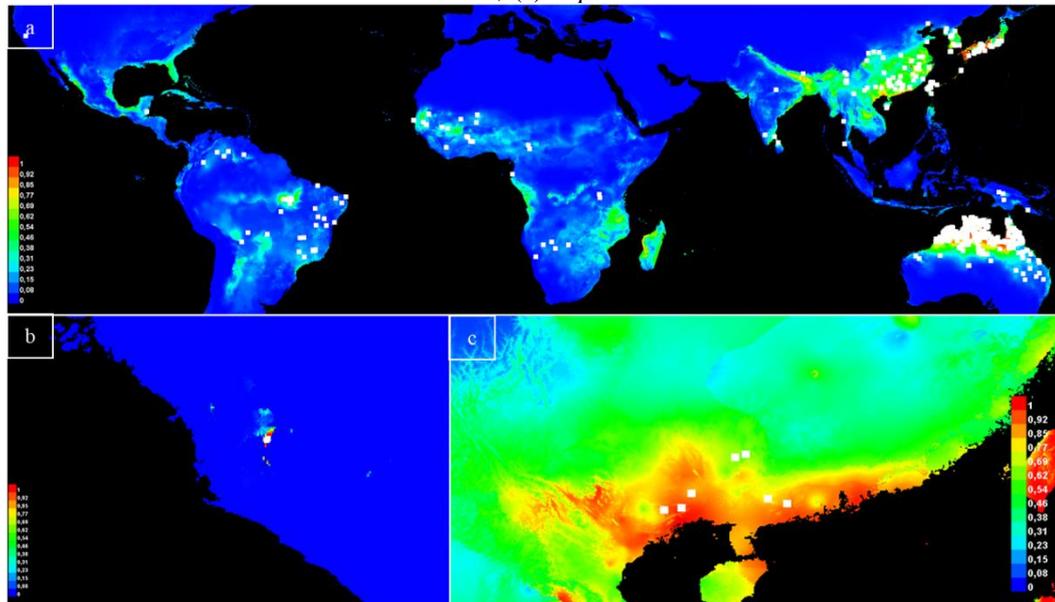
Figura 4. Mapas da modelagem preditiva de distribuição das espécies de *Eriocaulon*. (a) *Eriocaulon plumale*; (b) *E. echinulatum*; (c) *E. taquetii*; (d) *E. schochianum*; (e) *E. schimperi*; (f) *E. carsonii*.



Fonte: do autor



Figura 5. Mapas da modelagem preditiva de distribuição das espécies de *Eriocaulon*. (a) *E. cinereum*; (b) *E. tonkinense*; (c) *E. petraeum*.



Fonte: do autor

Assim sendo, a distribuição geográfica justifica a proximidade entre as espécies, mas outras coisas devem ser consideradas, pois, os dois agrupamentos são compostos por espécies dos mesmos continentes. Porém, com a busca no site Global Biodiversidade Information Facility, não foram encontrados registros para as espécies *Eriocaulon fluviatile* Trim., *Eriocaulon phuphanoides* Praj. & J.Parn., e *Eriocaulon tingilomum* S.M.Phillips & Mesterházy, não podendo ser gerados mapas de distribuição para estas espécies, o que poderia elucidar melhor tais questões.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gênero *Eriocaulon* é um dos maiores dentro da família, mesmo assim ainda há poucas informações acerca de suas relações filogenéticas, desta forma estudos moleculares podem auxiliar no melhor entendimento das relações do grupo. Nas árvores filogenéticas a maioria dos genes tiveram os mesmos grupos irmãos representados, e os critérios de Máxima Parcimônia e Máxima Verossimilhança obtiveram resultados semelhantes, em sua maioria. E a partir da análise dos mapas pode-se observar que a união das espécies em grupos irmãos nos cladogramas, teve relação com a proximidade geográfica das mesmas na maioria dos casos, porém, mais estudos se fazem necessários para justificar a separação das espécies em dois agrupamentos.



AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUNIERA, Carla Poleselli. **Estudos filogenéticos e sistemáticos em Rutaceae: análise cladística e posicionamento de Almeida A. St.-Hil. entre as Galipeinae (Galipeae, Rutoideae) com o uso de dados morfológicos e moleculares.** 2010. 144 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 2010. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-16082010-160505/publico/Bruniera2010.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2021.

CEMIN, Luciano Côelho Milhomens. **O uso de um fragmento do marcador matk como sequência DNA barcode em Araceae.** 2012. 179 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas, UnB, Brasília, 2012. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/11065/1/2012_LucianoCoelhoMilhomensCemin.pdf. Acesso em: 20 jan. 2021.

CHASE, Mark W. *et al.* A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. **Taxon**. v. 56, p. 295-299, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/tax.562004>. Acesso em: 20 jan. 2021.

GIULIETTI, Ana Maria *et al.* Eriocaulaceae in the Brazilian Amazon and the use of Species Distribution Modelling in its conservation. **Rodriguésia**. v. 67, n. 4, p. 905-916, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rod/v67n4/2175-7860-rod-67-04-0905.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2021.

GIULIETTI, Ana Maria *et al.* Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae. **Rodriguésia**. v. 63, n. 1, p. 001-019, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rod/v63n1/a01v63n1.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2021.

HIJMANS, Robert *et al.* **A geographic information system for the analysis of species distribution data.** Versão 7.5. 2012. Disponível em: <http://www.diva-gis.org/>. Acesso em: 04 jan. 2021.

KUMAR Sudhir *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**. v. 35, p. 1547-1549, 2018. Disponível em: <https://www.megasoftware.net/>. Acesso em: 30 nov. 2020.

MIYAKI, Cristina Yumi; RUSSO, Cláudia A. de Moraes; PEREIRA, Sérgio Luiz. Reconstrução filogenética. Introdução e o método da máxima parcimônia. In: **Biologia molecular e evolução** [S.l.: s.n.], 2001.



NABOUT, João Carlos et al. Distribuição geográfica potencial de espécies americanas do caranguejo “violinista” (*Uca* spp.) (Crustacea, Decapoda) com base em modelagem de nicho ecológico. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 99, n. 1, p. 92-98, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/isz/v99n1/v99n1a13.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2021.

PAPES, Monica; GAUBERT, Philippe. Modelling ecological niches from low numbers of occurrences: assessment of the conservation status of poorly known viverrids (Mammalia, Carnivora) across two continents. **Diversity and Distributions**, v. 13, p. 890-902. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1472-4642.2007.00392.x>. Acesso em: 19 jan. 2021.

PHILLIPS, Steven J.; DUDÍK, Miroslav; SCHAPIRE, Robert E. [Internet] **Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4.1)**. Disponível em: http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/. Acesso em: 04 jan. 2021.

RANDO, Juliana Gastaldello. **Estudos filogenéticos, taxonômicos e biogeográficos em Chamaecrista, Leguminosae**. 2014. 22 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 2014. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-06032015-093505/publico/Juliana_Rando_SIMPL.pdf. Acesso em: 20 jan. 2021.

SAKAMOTO, Tetsu. **Ferramentas para análise filogenética e de distribuição taxonômica de genes ortólogos**. 2016. 114 f. Tese (Doutorado em Bioinformática) - Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, 2016. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-APTNP/1/tese_tetsu_sakamoto.pdf. Acesso em: 20 jan. 2021.

SERINO, Germán; MALIGA, Pal. RNA Polymerase Subunits Encoded by the Plastid rpo Genes Are Not Shared with the Nucleus-Encoded Plastid Enzyme. **Plant Physiology**. v. 117, p. 1165–1170, 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC34880/pdf/1165.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2021.