



Sequências de DNA na identificação de espécies e análise filogenética de microrganismos

Dra. Chirlei Glienke

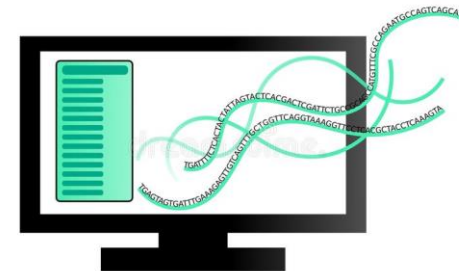
Dra. Desirrê Petters-Vandresen

Introdução

- Planejando o projeto....

- Sequenciando....

- Tenho a sequência, e agora?



Planejando.....



- Qual o meu objetivo?
 - O que eu quero responder?
 - **Identificação** ou **delimitação** de espécies?
- Qual minha hipótese?
 - O que eu sei sobre o meu organismo?
- Qual gene usar?
- Quais sequencias estão disponíveis?
- Quais linhagens eu devo ter?
- Onde achar?
- Como construir e interpretar uma árvore filogenética?

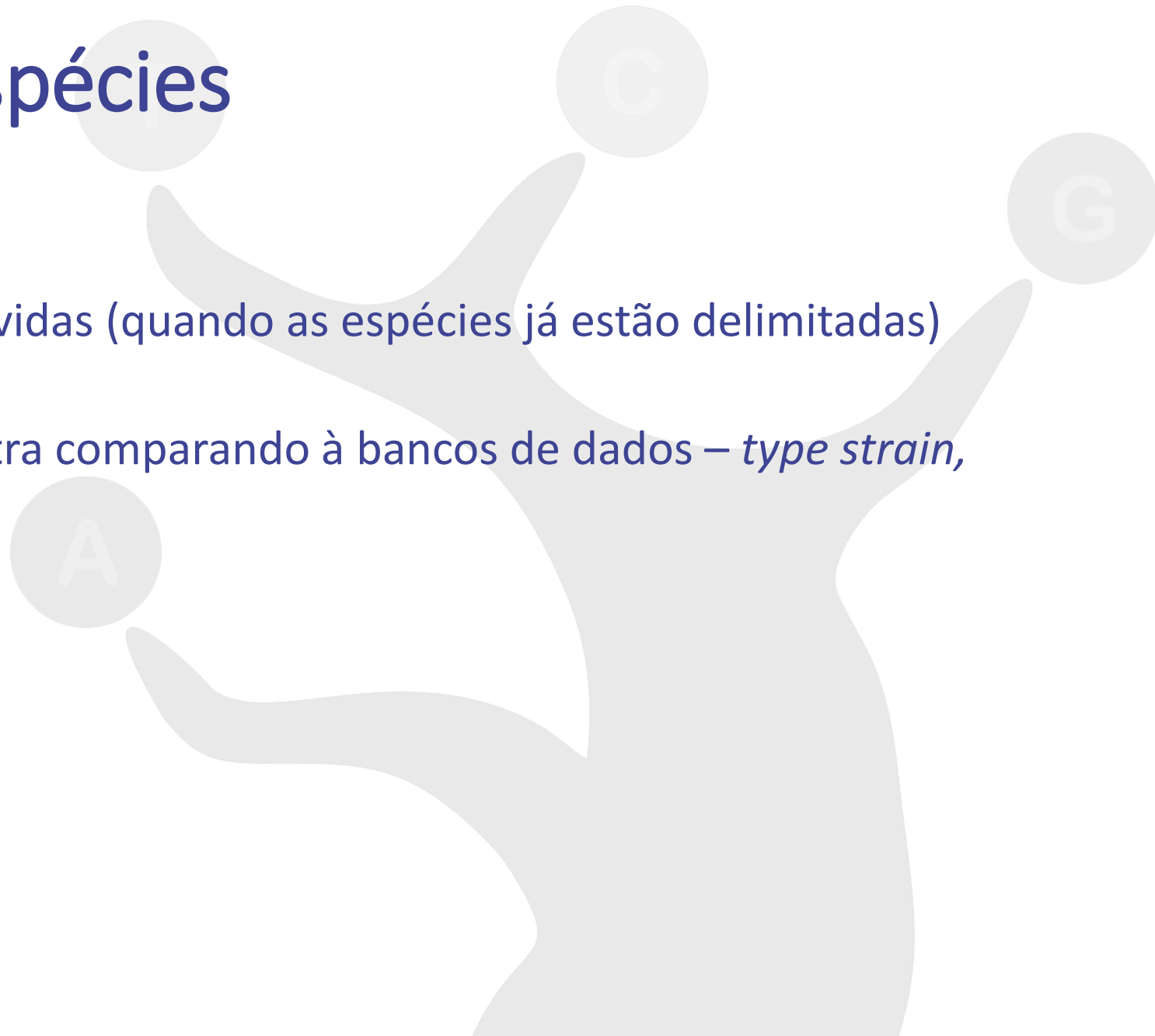
Planejando.....

- Qual o meu objetivo?
 - O que eu quero responder?
 - Identificação de gênero x espécie?
 - Quando eu preciso primeiro fazer delimitação de espécies baseada em análise filogenética?



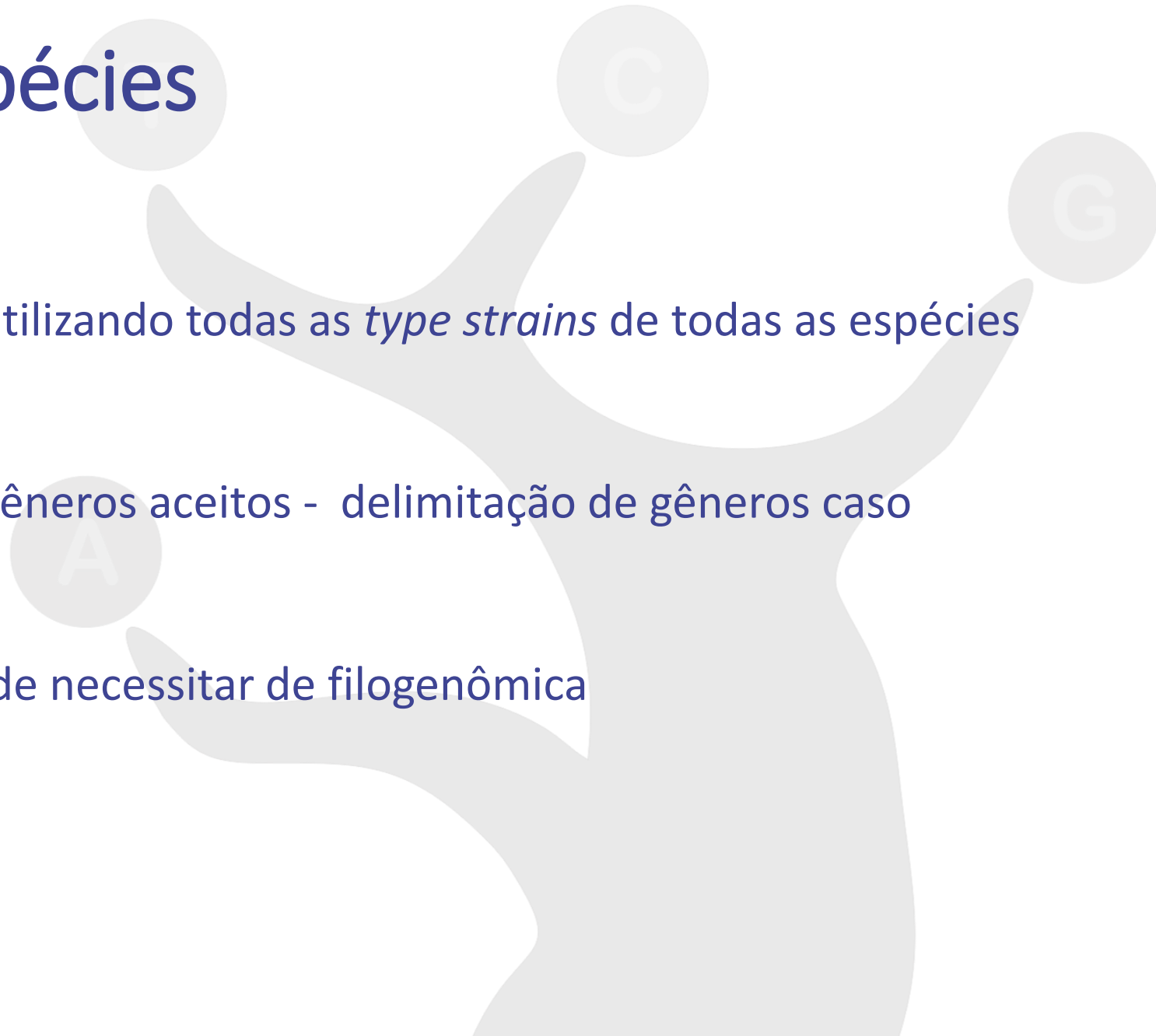
Identificação de espécies

- Quando fazer?
 - Gêneros e espécies já resolvidas (quando as espécies já estão delimitadas)
 - Identificação de uma amostra comparando à bancos de dados – *type strain*, *type species*
 - Uso de DNA barcoding



Delimitação de espécies

- Quando fazer?
 - Reconstrução filogenética utilizando todas as *type strains* de todas as espécies aceitas do gênero
 - Famílias já resolvidas com gêneros aceitos - delimitação de gêneros caso necessário
 - Complexos de espécies: pode necessitar de filogenômica



Descrição de espécies



- Análise filogenética utilizando todas as *type strains* de todas as espécies aceitas do gênero
- Descrição morfológica detalhada
- Fisiologia/associação com hospedeiro
- Depósito em bancos de dados (p.ex. Sequencias no GenBank, Alinhamentos e árvores no Treebase, Espécies no Mycobank ou correlatos)
- Depósito de exemplar em coleção biológica

Conceitos básicos

- Análise filogenética



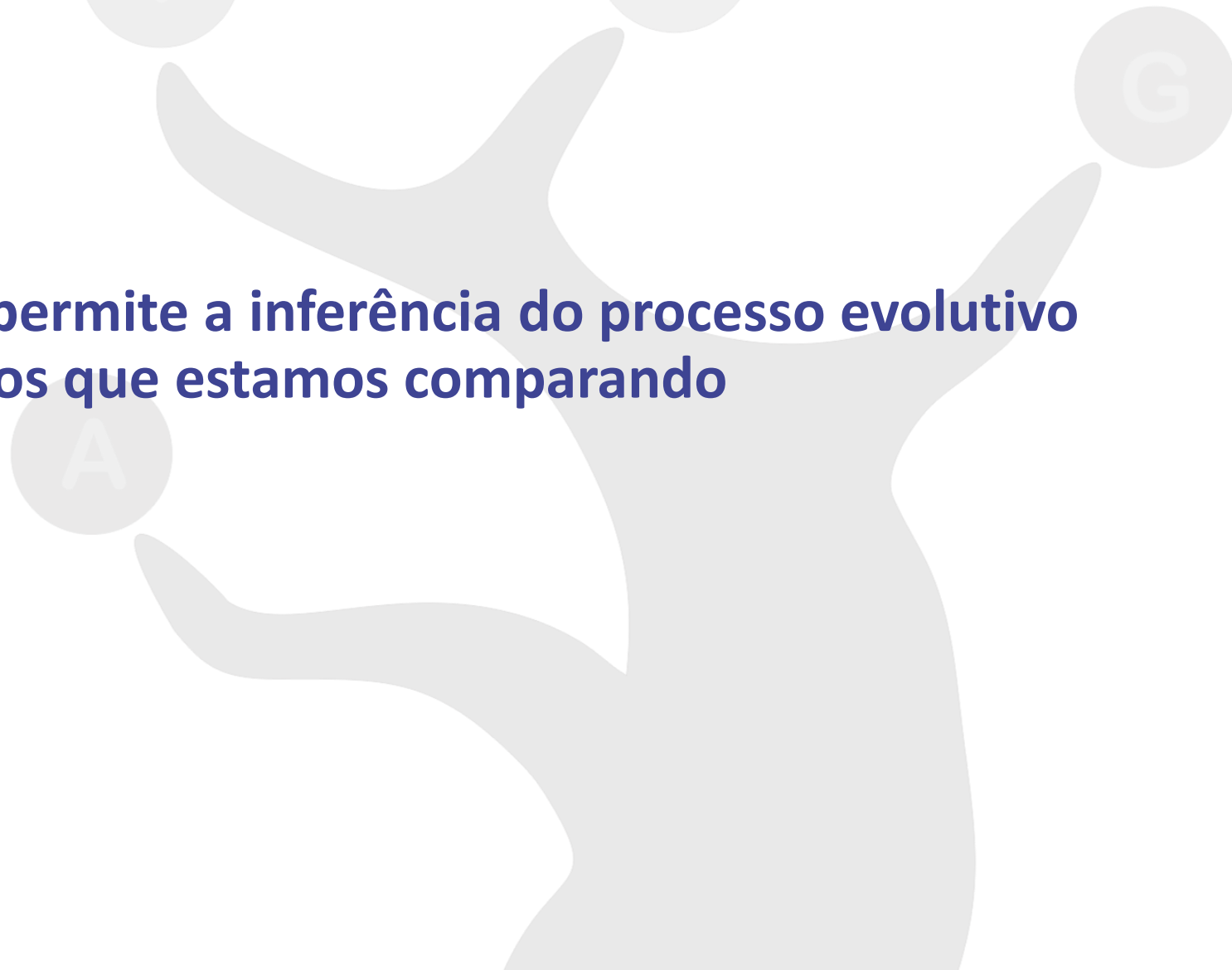
ANÁLISE FILOGENÉTICA – CONCEITOS BÁSICOS

- O DNA de qualquer espécie acumula mutações ao longo do tempo
- Quando duas espécies surgem a partir de um ancestral comum, deixa de ocorrer fluxo gênico entre elas (salvo em casos de transferência horizontal) e dessa forma, passam a acumular mutações distintas
- O número de mutações acumuladas tende a ser proporcional ao tempo de divergência entre as espécies

ANÁLISE FILOGENÉTICA – CONCEITOS BÁSICOS

- Consequência:

A análise destas mutações permite a inferência do processo evolutivo dos organismos que estamos comparando



ANÁLISE FILOGENÉTICA – QUANDO FAZER?

- Para representar as relações entre espécies;
- Para descrever a história de populações;
- Para descrever as dinâmicas evolutivas e epidemiológicas dos patógenos;
- Análise filogenética – genealogia – quanto mais próximos dois indivíduos, mais similares serão as sequências de DNA;
- Estimativa do tempo de divergência (possuem ancestral comum);

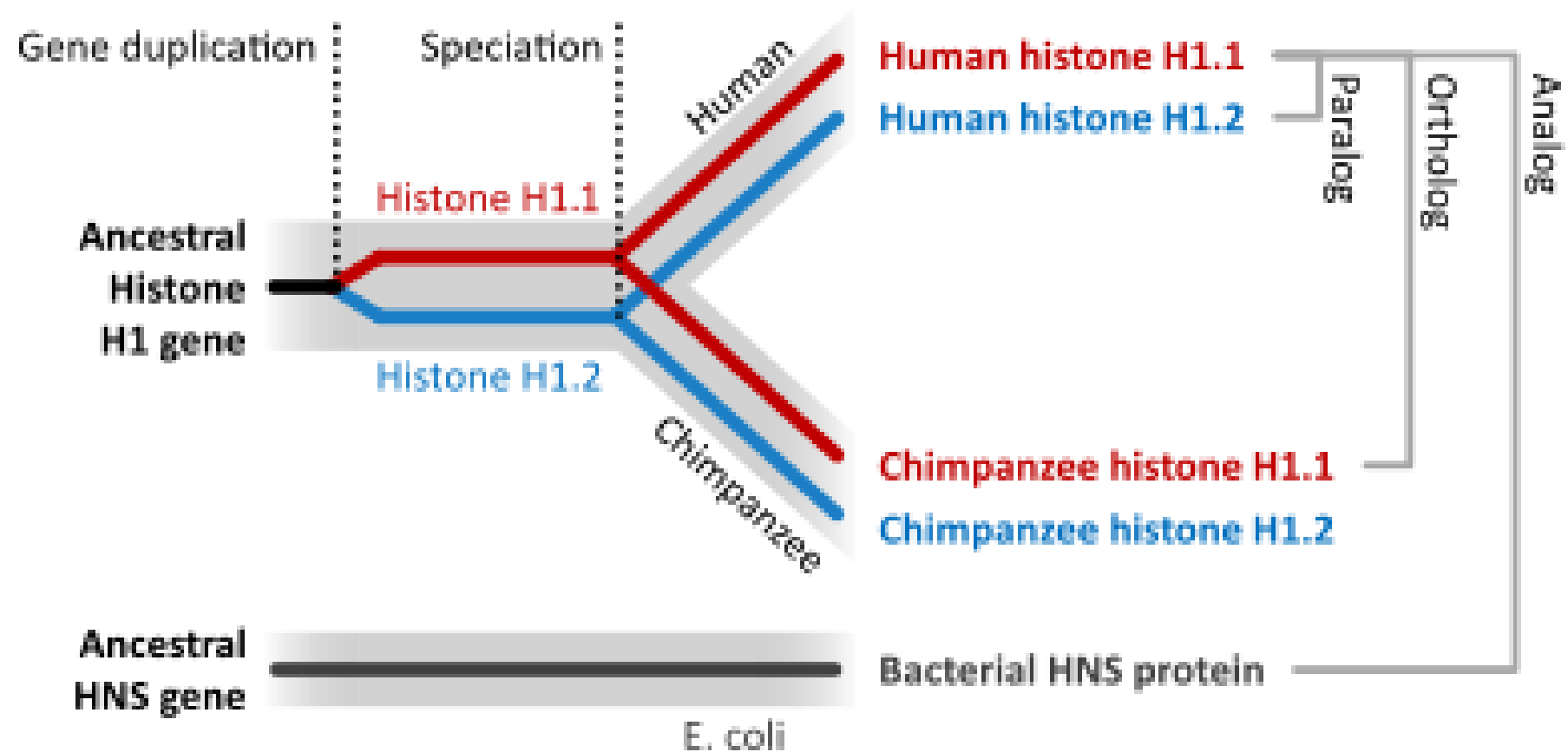
ANÁLISE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES

- **Filogenia:** Ajuda a inferir a história evolutiva das espécies e verifica os relacionamentos entre estas espécies, a fim de determinar possíveis ancestrais comuns entre elas.
- **Árvore Filogenética:** É a representação visual da história evolutiva dos organismos, baseada em análises rigorosas. É uma árvore onde as folhas representam os organismos (ou as sequências estudadas) e os nós internos, seus supostos ancestrais. Diagrama que mostra as linhagens e relações dos organismos
- **Homologia:** A relação entre sequências que compartilham uma sequência ancestral comum

ANÁLISE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES

- **Homologia:** A relação entre sequências que compartilham uma sequência ancestral comum.
 - Importante: Saber se os genes são ortólogos ou parálogos
 - Parálogos: genes que se originaram de um evento recente de duplicação. Se a filogenia for realizada com tais genes, a informação que iremos obter será sobre o evento de duplicação.
 - Ortólogos: Genes homólogos em diferentes espécies que evoluíram independentemente por causa da especiação. Se a análise filogenética for realizada com tais genes, a informação que teremos será sobre o evento de especiação.

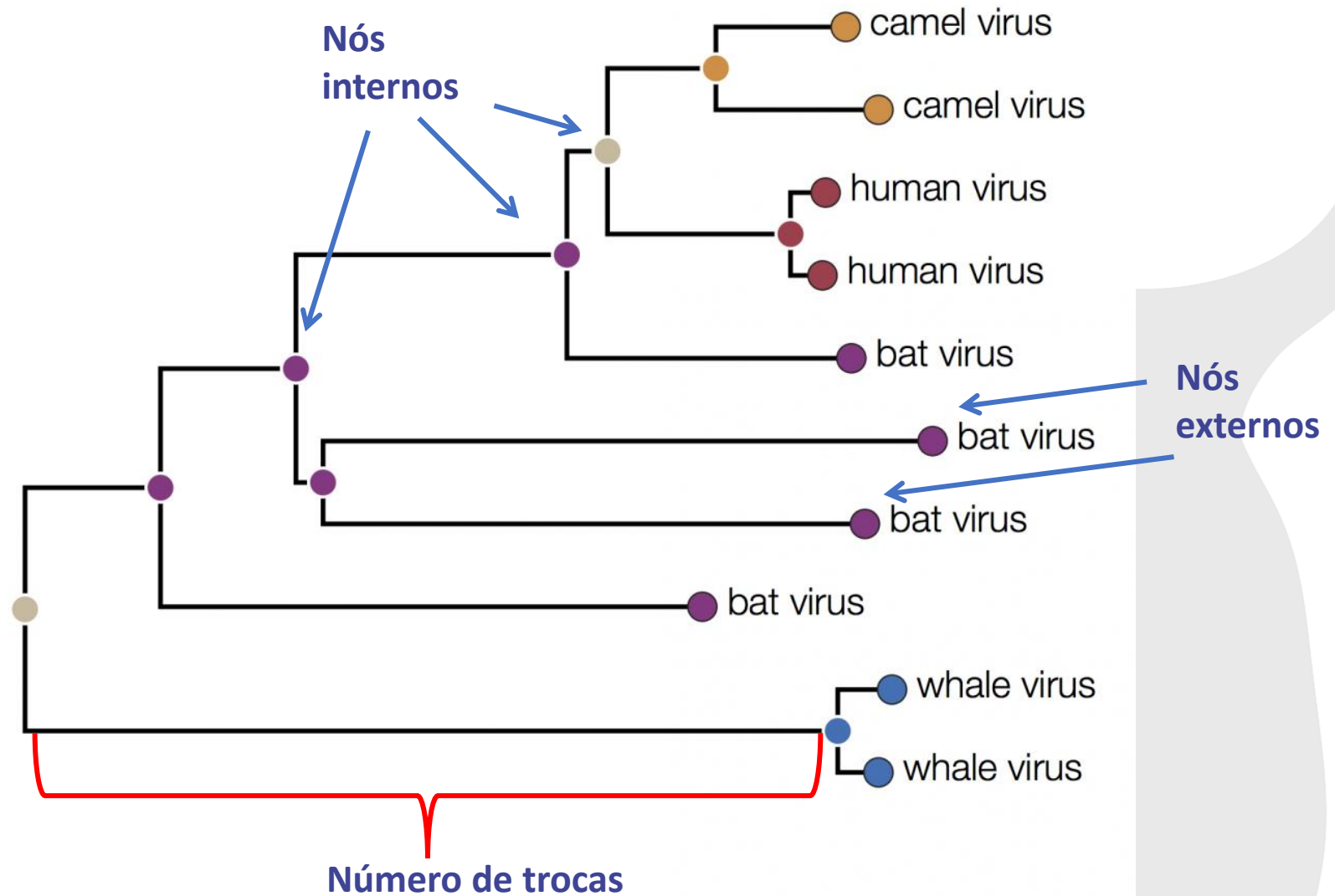
GENES CÓPIAS, PARÁLOGOS OU ORTÓLOGOS



ANÁLISE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES

- **Nós e Ramos – conecta os nós e representa a quantidade de trocas genéticas entre o nó ancestral e o descendente**
 - Nó externo: ponta da árvore (linhagens)
 - Nó interno: taxa ancestral (não presente)
- **Comprimento dos ramos: número de trocas**

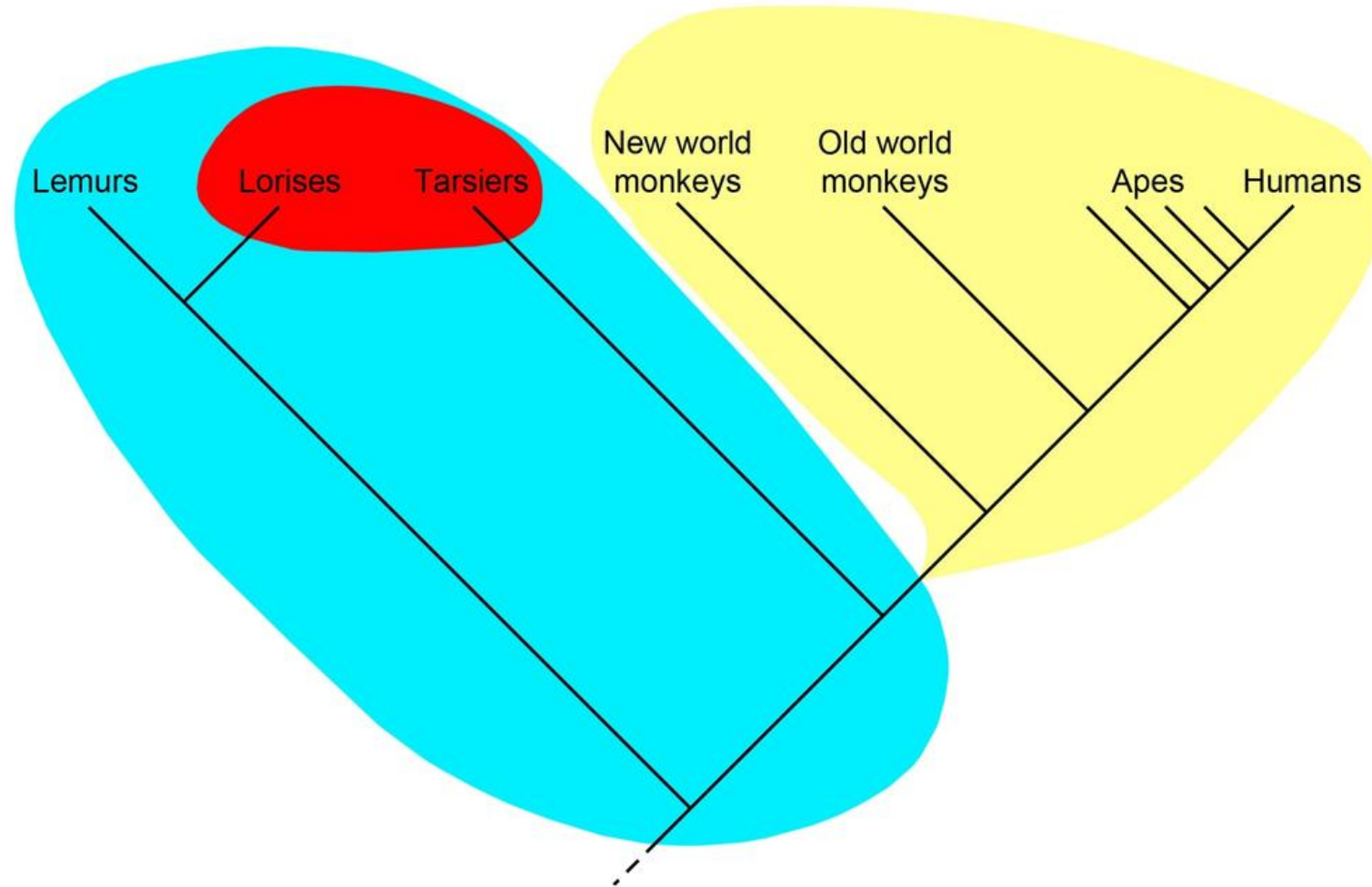
ÁRVORE FILOGENÉTICA



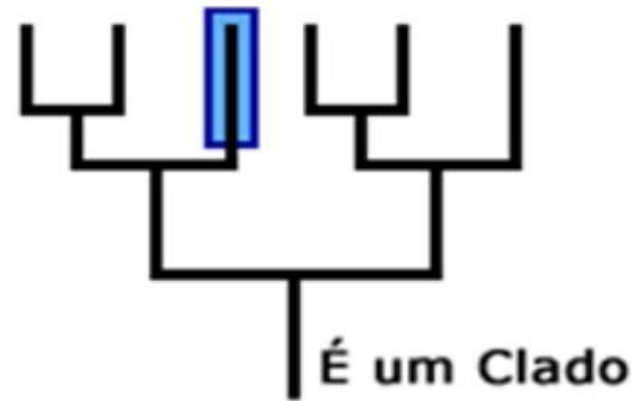
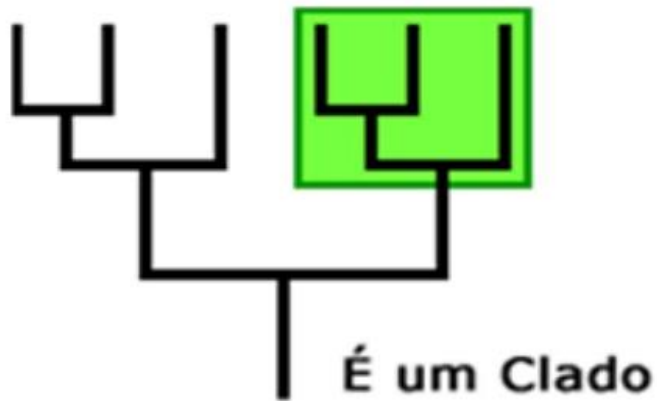
ÁRVORE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES

- **Monofilético:** Um grupo de taxa (indivíduos da análise) que compartilham o mesmo braço, também chamado de cluster – inclui o ancestral e todos os descendentes
- **Parafilético:** Um grupo de taxa que não formam um cluster sem incluir linhagens adicionais – inclui os ancestral mas não todos os descendentes

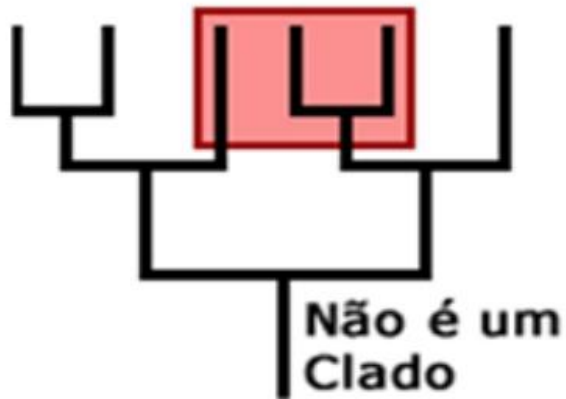
- Monofilético (ou natural)
- Parafilético
- Polifilético



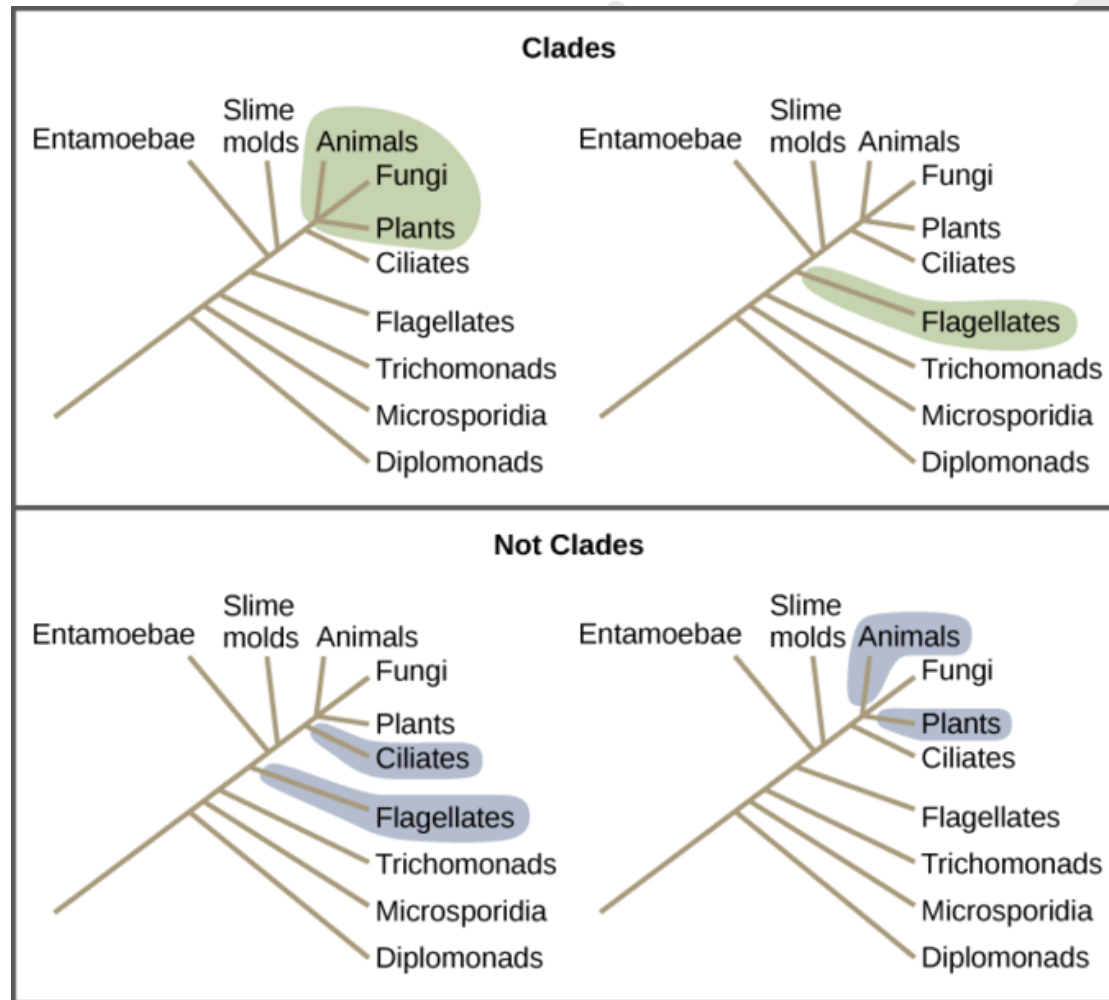
ÁRVORE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES



clados: grupos de organismos que descendem de um único ancestral



ÁRVORE FILOGENÉTICA – DEFINIÇÕES



ÁRVORE FILOGENÉTICA



- Dois interesses principais:

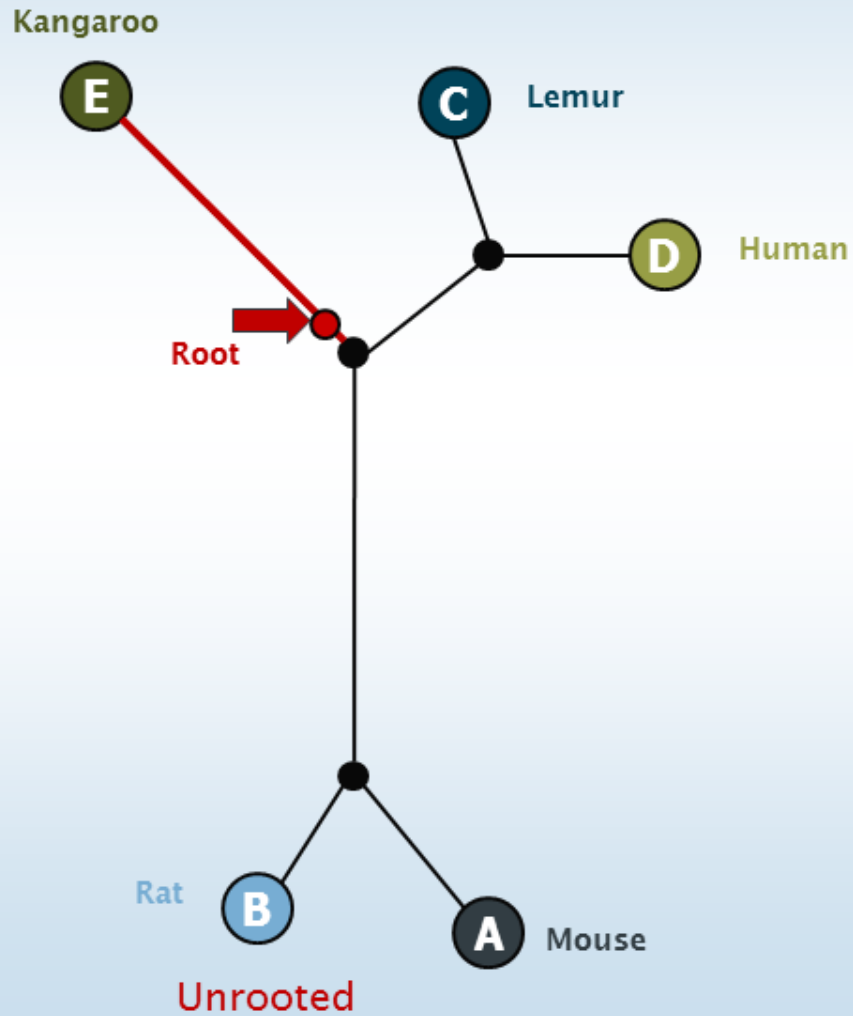
- * Obter a topologia da árvore - a forma como os nós internos se conectam uns com os outros e com nós da extremidade
- * Obter as distâncias entre todos os nós da árvore

ÁRVORE FILOGENÉTICA

A large, light gray, stylized tree structure is positioned on the right side of the slide. It has a central trunk that branches out into three main limbs. Each limb ends in a circular node. The top-left node is labeled 'C', the top-right node is labeled 'G', and the bottom-left node is labeled 'A'. The letters are in a light gray font, matching the tree's color.

- A raiz de uma árvore filogenética:
 - Na árvore com raiz (ou enraizada), a raiz representa o ancestral comum a todos os nós da árvore
 - Sem informações suficientes para determinar o ancestral comum a todos os nós - árvore sem raiz
 - Especifica somente as relações entre os taxa e não define a via evolutiva

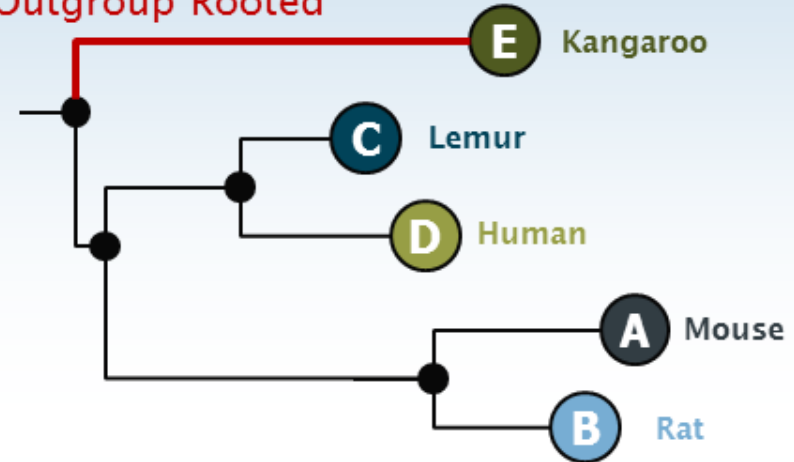
Define relações entre os taxa



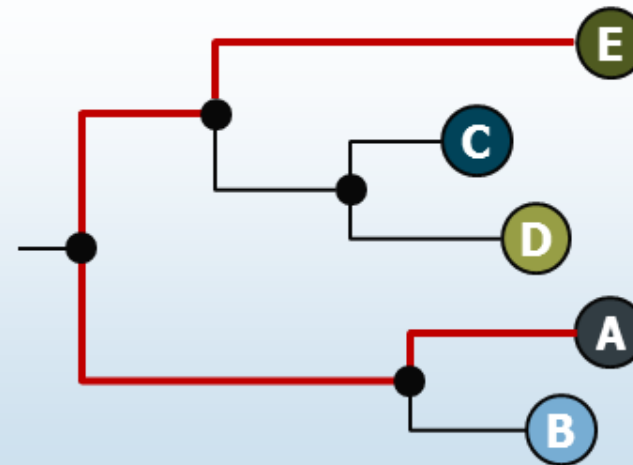
Define via evolutiva



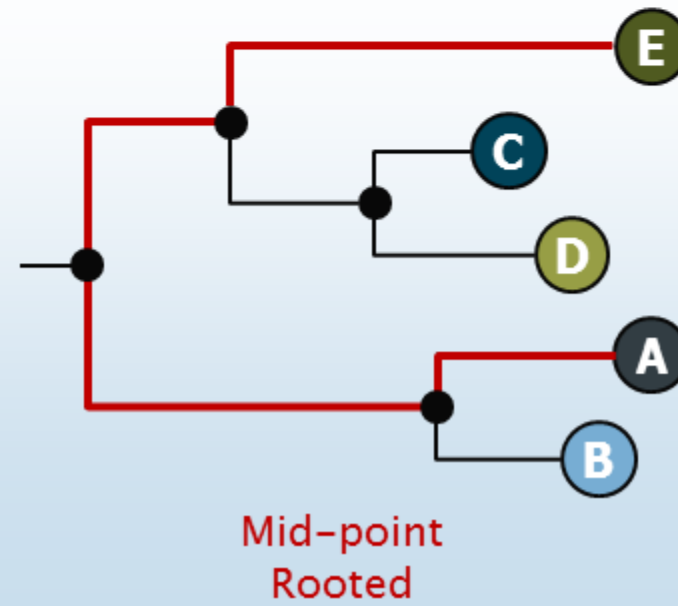
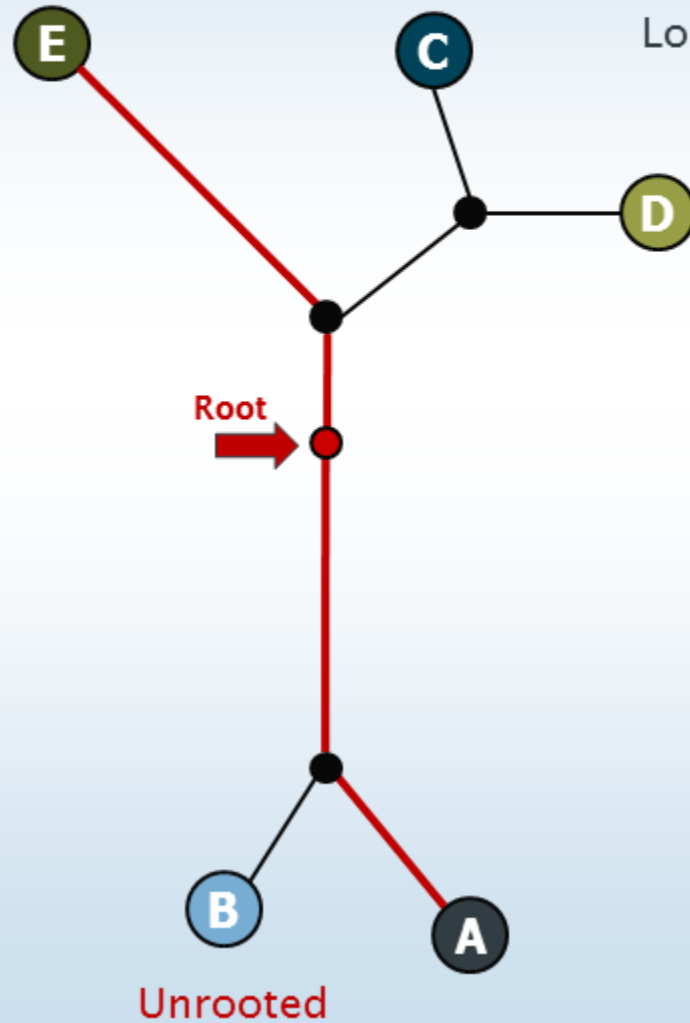
Outgroup Rooted



Mid-point
Rooted

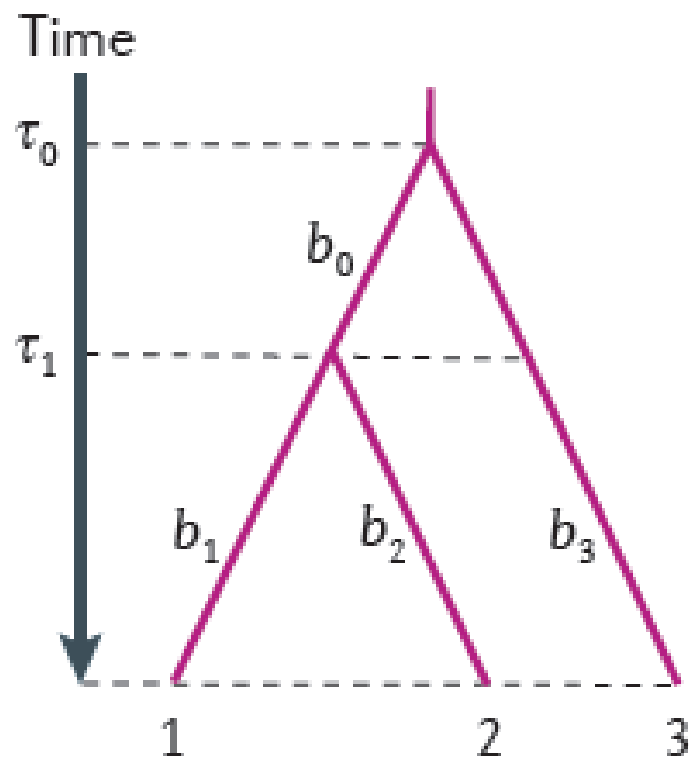


Mid-point Rooting

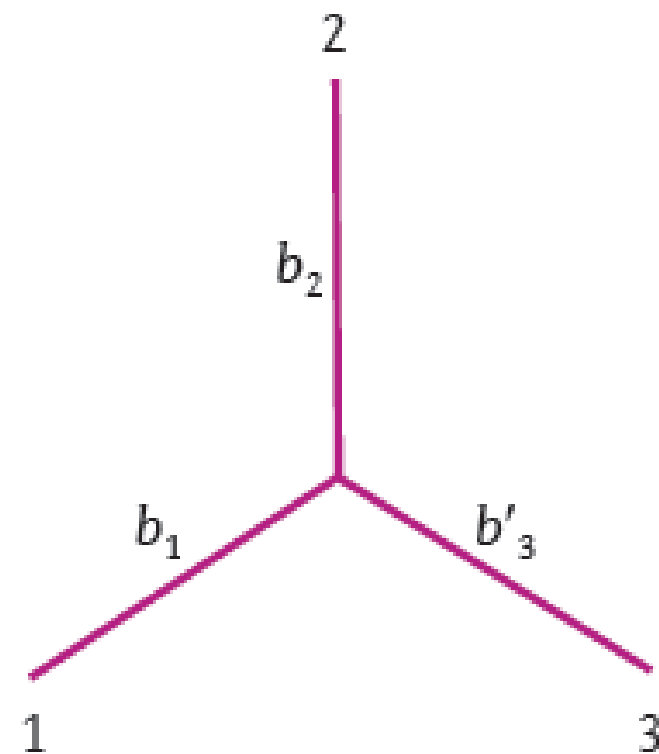


ÁRVORE FILOGENÉTICA

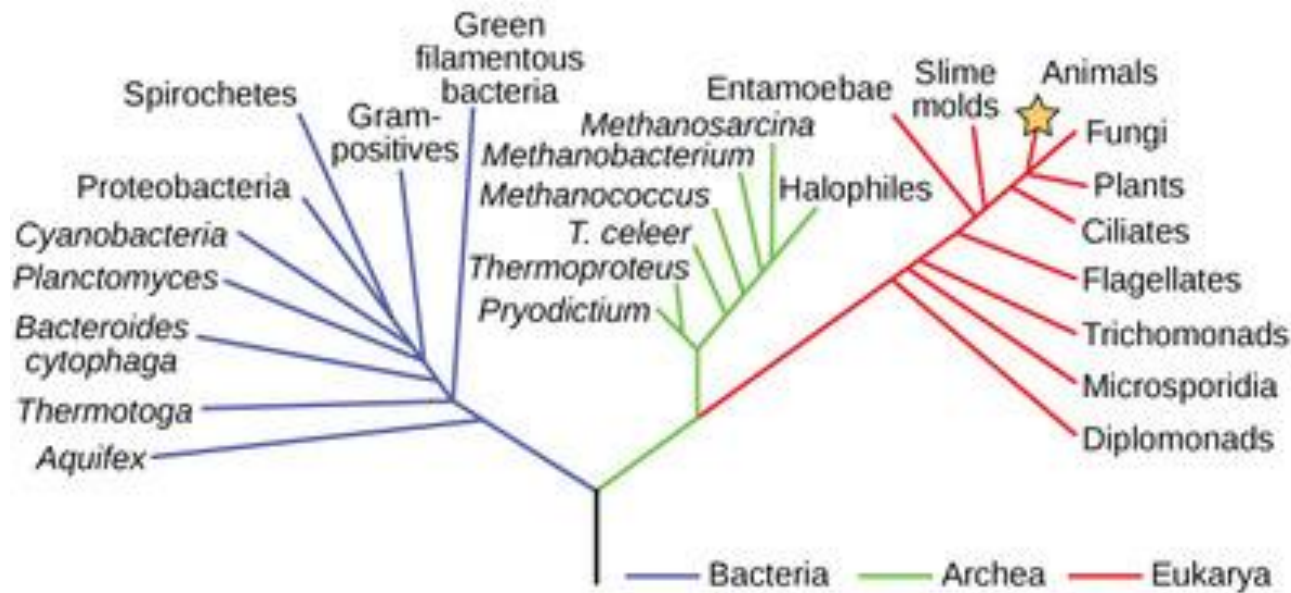
a Rooted tree



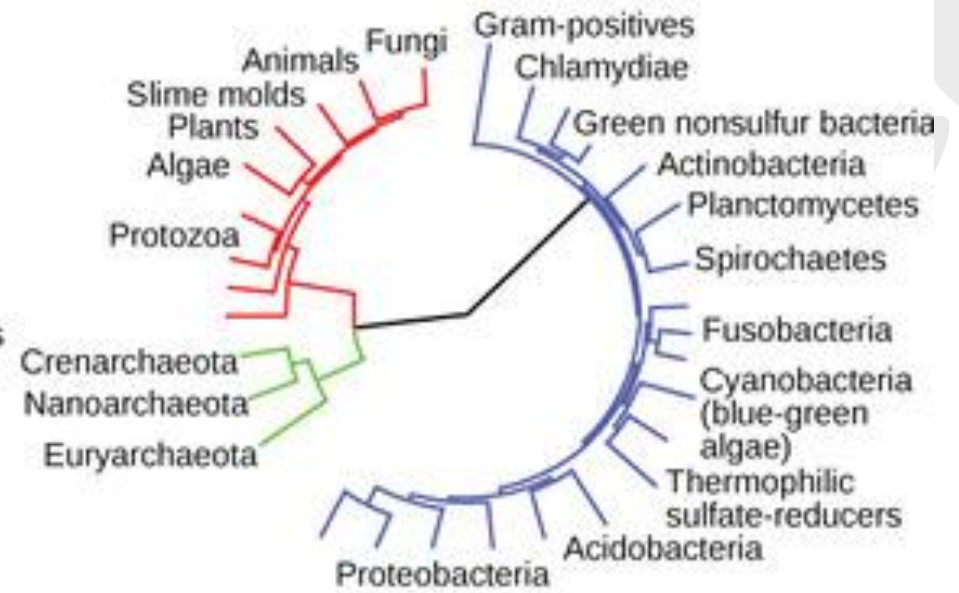
b Unrooted tree



ÁRVORE FILOGENÉTICA



(a) Rooted phylogenetic tree



(b) Unrooted phylogenetic tree

Ambas as árvores filogenéticas mostram a relação dos três domínios da vida (Bacteria, Archaea e Eukarya), mas a (a) árvore enraizada tenta identificar quando várias espécies divergiram de um ancestral comum, enquanto a (b) árvore não enraizada não mostra isso

ÁRVORE FILOGENÉTICA

- A **raiz** de uma árvore filogenética indica que uma linhagem ancestral deu origem a todos os organismos da árvore
- Um **ponto de ramificação** indica onde duas linhagens divergiram
- Uma linhagem que evoluiu cedo e permanece não ramificada é um **táxon basal** – sem ramificação
- Quando duas linhagens derivam do mesmo ponto de ramificação, elas são **táxons irmãos**
- Um ramo com mais de duas linhagens é uma **politomia** – relação evolutiva não resolvida

