



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró Reitoria de Pesquisa

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica submetido
para avaliação no Edital: 04/2022

Título do projeto: Análises ecológicas para a tribo Vandeeae

Palavras-chave do projeto: banco de dados, número cromossômico, tamanho de genoma, poliploidia, hábito, Vanda, orquídea, Angraecum.

Área do conhecimento do projeto: Ciências Biológicas, Botânica e Evolução.

SUMÁRIO

RESUMO	2
INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO	3
A família Orchidaceae e a sua diversidade	3
Tribo Vandaeae	4
OBJETIVOS	6
METODOLOGIA	6
Etapa 1: Dados ecológicos: hábito (Fig. 1 - quadro 3)	8
Etapa 2: Análises macroevolutivas (Fig. 1 - quadro 4)	8
2.1. As variáveis são independentes entre si?	8
2.2. Qual modelo evolutivo melhor explica a evolução destes caracteres?	8
2.3. As variáveis citogenéticas têm sinal filogenético?	9
Etapa 3: Análises macroecológicas - correlações estatísticas (Fig. 1 - quadro 5)	9
DESCRIÇÃO DA INFRAESTRUTURA & VIABILIDADE DO PROJETO	9
CRONOGRAMA	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10

1. RESUMO

A família Orchidaceae é uma das famílias botânicas mais diversas, tanto em caracteres citogenéticos, morfológicos, como ecológicos. Orchidaceae é a maior entre as famílias de angiospermas, compondo um importante componente da flora do Neotrópico, além de ser reconhecida por apresentar altos níveis de complexidade nos mecanismos de reprodução e morfologia vegetativa e floral, sendo a última muito importante para definição taxonômica dos clados. Dentre os clados que passaram por diversos realinhamentos taxonômicos está a tribo Vandaeae (subfamília Epidendroideae), clado composto por cerca de 2.000 espécies distribuídas em três subtribos, estas recentemente circunscritas. Após as buscas de literatura para a tribo e dos seus dados citogenéticos (números cromossômicos e tamanho do genoma) que compôs um banco de dados e permitiu a construção de uma filogenia, o presente projeto visa reunir as informações obtidas e relacioná-las com o hábito de cada espécie com o uso de análises macroevolutivas e macroecológicas. Responder as

possíveis correlações entre as variáveis citogenéticas e as de hábito ecológico fazendo regressões logísticas do passado evolutivo destas Angiospermas.

2. INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A família Orchidaceae e a sua diversidade

Orchidaceae Juss. é a maior família de angiospermas (Christenhusz & Byng 2016, Ulloa *et al.* 2017) com cerca de 28 mil espécies distribuídas em 880 gêneros organizados em cinco subfamílias: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyrtipedioideae, Orchidoideae e Epidendroideae (Freudenstein & Chase 2015, Chase *et al.* 2015). No entanto, além do seu tamanho, a família Orchidaceae se destaca pela ampla diversidade morfológica, genética e ecológica das suas espécies (Givnish *et al.* 2015, 2016). Originada aproximadamente há 88 - 112 milhões de anos (Ma) na Austrália (Givnish *et al.* 2016, Serna-Sánchez *et al.* 2021), a família Orchidaceae atualmente está presente em todos os continentes, à exceção da Antártica.

As orquídeas apresentam também grande diversidade de habitats, podendo ser observadas como terrestres, terrícolas, palustres, mico-heterotróficas rupícolas ou epífitas, o último exclusivo das orquídeas do Neotrópico (Pabst & Dungs, 1975; 1977; Dressler, 1993). Além disso, as orquídeas apresentam uma grande diversidade de cariótipos, com números cromossômicos variando desde $2n=12$ em *Erycina pusilla* (L.) N.H.Williams & M.W.Chase (subtribo Oncidiinae, Epidendroideae) até $2n=240$ em *Epidendrum cinnabarinum* Salzm. ex Lindl. (subtribo Epidendreae, Epidendroideae) e a segunda maior amplitude de variação de tamanho de genoma dentre as famílias vegetais (Leitch *et al.* 2009). Desta forma, a família Orchidaceae desponta como um excelente modelo de estudo da evolução cromossômica e relações entre caracteres citogenéticos, morfológicos e ecológicos.

Entretanto, tais análises dependem de correção filogenética, introduzindo um *background* evolutivo na análise de associação entre caracteres citogenéticos e de hábito.

Atualmente, diversos realinhamentos têm sido realizados e a reconstrução da filogenia dedicada a esse estudo é desejável. Visando filtrar uma parte da enorme subfamília Epidendroideae, este projeto irá focar na tribo Vandaeae, uma tribo com muitos dados disponíveis tanto de caracteres citogenéticos como para reconstrução da filogenia, como já levantado no período da bolsa PIBIC anterior.

2.2. Tribo Vandaeae

Estudos recentes baseados em análises moleculares Orchidaceae têm sugerido novas circunscrições para diferentes espécies de orquídeas. Isso é verdadeiro também para a tribo Vandaeae (subfamília Epidendroideae), que conta com poucos dados de taxonomia molecular. A tribo Vandaeae apresenta, aproximadamente, 2.000 espécies com distribuição pantropical (Carlsward *et al.* 2016) e são bastante conhecidas do público geral, em especial as vandas, que apresentam elevada importância em horticultura. Morfologicamente, Vandaeae pode ser identificada por apresentar (1) raízes com velame; (2) crescimento monopodial; (3) o número de polínias foram reduzidas de oito para quatro ou duas; e também (4) as polínias são sobrepostas (Porembki & Barthlott 1988, Rasmussen 1986). Além disso, a ausência de folhas é um aspecto único dessa tribo. Apesar da ausência de folhas ocorrer com frequência em várias espécies vasculares, como ocorre com suculentas e plantas de hábito xerófilo (por exemplo, Cactaceae, Euphorbiaceae) - as quais realizam a sua fotossíntese através do caule -, o que diferencia o aspecto em Vandaeae é que seu caule é apenas encurtado. A redução do caule na tribo Vandaeae contribui para a redução do ganho líquido de carbono, de forma que, as raízes formam a parte principal da planta. A hipótese é que com a redução do caule, essas epífitas extremas disponibilizam mais recursos para as flores e os frutos (Carlsward *et al.* 2016).

Quanto a classificação taxonômica da tribo Vandaeae, ela é baseada de maneira primária na morfologia floral, a qual tem se mostrado falha uma vez que as características florais

utilizadas tem se provado homoplásticas, ou seja, suas semelhanças estruturais não são homólogas e podem ter surgido por paralelismo ou por convergência evolutiva (Chase & Palmer 1989, Bateman *et al.* 1997). Em razão disso, essa tribo foi alvo de muitas modificações com o avanço dos estudos.

A tribo foi descrita pela primeira vez por Lindley em torno dos anos 1800, o qual foi responsável por agrupar, inicialmente, os membros baseando-se na presença de caulículos (apêndice elástico e alongado na estrutura da coluna) diferentes do polinário. Posteriormente, muitos realinhamentos foram feitos tanto com base nos aspectos morfológicos para delimitar a tribo, quanto a subfamília Epidendroideae (Dressler 1993, Dressler & Dodson 1960, Garay 1972, Dressler 1981, Dressler 1989, Szlachetko 1995, Freudenstein & Rasmussen 1999, Chase *et al.* 2003). Na classificação mais recente de Epidendroideae (Freudenstein & Chase 2015), Vandae foi definida como uma tribo monofilética, mas apresentando politomias internas, até em maior número se comparada a alguns outros grupos de Epidendroideae (e.g., Cymbidieae e Agrostophyllinae). Além disso, foram delimitadas três subtribos para Vandae: Angraecinae, Aeridinae e Polystachyinae, sendo a última a mais recente (Cameron 2001, van den Berg 2005). Individualmente, Aerangidinae e Angraecinae são polifiléticas (tendo em vista análises morfológicas), porém juntas elas compõem um grupo monofilético bem definido pelas análises moleculares (Carlsward *et al.* 2016).

Os dados de análise em citogenética desta tribo eram bastante incipientes, mas recentemente foram revisados e analisados no projeto de iniciação científica no edital 01/2021 sob um enfoque evolutivo que com o desenvolvimento de um banco de dados para a tribo Vandae obtiveram-se informações taxonômicas que forneceram dados completos para compreender a história evolutiva do padrão cromossômico e do tamanho do genoma. Os dados contribuíram para observar algumas alterações cromossômicas na reconstrução da ancestralidade, tais como a poliploidia (duplicação do complemento cromossômico) e a

disploidia (aumento/redução de um ou poucos cromossomos). Nesse sentido, o presente projeto visa continuar a reconstrução de literatura e análise filogenética para a tribo e relacionar as informações citogenéticas com os tipos de hábitos.

3. OBJETIVOS

O presente projeto tem como objetivo responder se há, ou não, relações entre os caracteres citogenéticos de tamanho do genoma e número cromossômico com o hábito das espécies da tribo Vandae (empregando o levantamento de dados e a filogenia construída no edital do PIBIC de 2021).

4. METODOLOGIA

As análises deste projeto utilizarão os resultados obtidos no projeto PIBIC executado no período 2021-2022. Neste período está sendo realizado o levantamento do número cromossômico e tamanho de genoma da tribo Vandae e feita a reconstrução da filogenia (veja quadros 1 e 2 na Fig. 1). Ambos dados serão utilizados neste projeto que iniciará com o levantamento do hábito (quadro 3 na Fig. 1), para então prosseguir para as análises macroevolutivas (quadro 4 na Fig. 1) e macroecológicas (quadro 4 na Fig. 1).

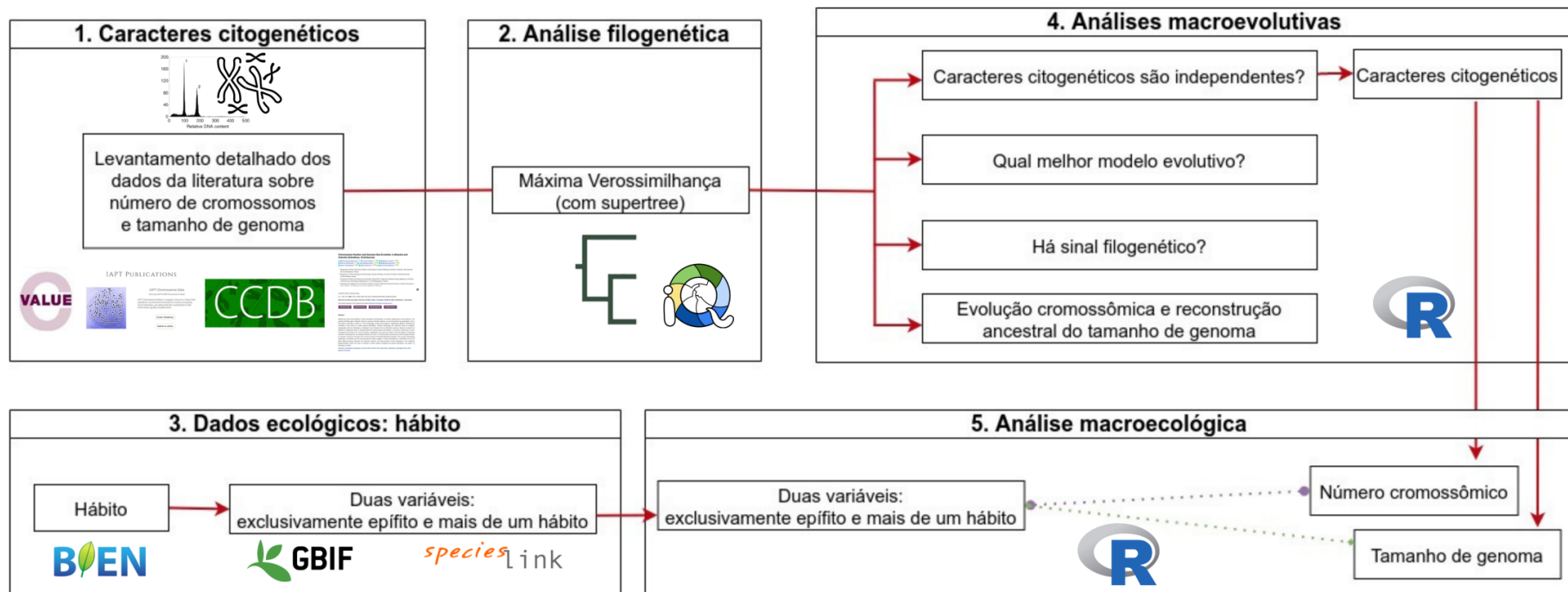


Fig 1. Representação esquemática do projeto que visa estudar a relação de caracteres citogenéticos e ecológicos. Os passos 1. Caracteres citogenéticos e 2. Análise filogenética já foram realizados em um projeto PIBIC. O presente projeto contempla os passos 3. Dados ecológicos: hábito, 4. Análises macroevolutivas e 5. Análise macroecológica, além da elaboração do site do banco de dados. O fluxograma destes passos seguem o esquema acima, com cada passo da metodologia descrito em uma caixa indicando as bases de dados e *softwares* a serem usados, além de indicar as análises que ocorrerão em ambiente R.

Etapas 1: Dados ecológicos: hábito (Fig. 1 - quadro 3)

Considerando as espécies com dados citogenéticos e sequências de DNA disponíveis no GenBank, será feita a busca quanto a informações de hábito (terrestre, terrícola, epífita ou rupícola). Os dados serão compilados a partir dos seguintes bancos de dados: World Flora Online (<http://www.worldfloraonline.org/>), GBIF (<https://www.gbif.org/>), SpeciesLink (<https://specieslink.net>), Orchid Species Photo Encyclopedia (<http://www.orchidspecies.com/>) e Flora do Brasil 2020 (Flora do Brasil 2020; <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>), além do livro *Orchidacearum* (Pridgeon et al. 2014). No caso de dúvidas e/ou dados faltantes, serão realizadas consultas a especialistas. Com base nas informações de hábitos, serão definidas duas variáveis ecológicas: “número de hábitos alternativos possíveis” e “exclusivamente ou não exclusivamente epífitas”.

Etapas 2: Análises macroevolutivas (Fig. 1 - quadro 4)

2.1. As variáveis são independentes entre si?

A independência das duas variáveis citogenéticas, número cromossômico e tamanho de genoma, será confirmada via teste de correlação PGLS (*Phylogenetic Generalized Least Squares*) utilizando pacote ‘caper’ (Orme et al. 2013) no ambiente R, empregando número cromossômico como variável resposta.

2.2. Qual modelo evolutivo melhor explica a evolução destes caracteres?

As regressões baseadas em filogenia também utilizarão o PGLS. Primeiro, usando o pacote ‘geiger’ (Pennell et al. 2014), os três modelos de evolução serão testados para confirmar o melhor modelo macroevolucionário para nossos traços genômicos: Movimento Browniano (Felsenstein 1973), Ornstein-Uhlenbeck (Butler & King 2004; Cressler et al. 2015) e Early Burst (Felsenstein 1973; Harmon et al. 2010).

2.3. As variáveis citogenéticas têm sinal filogenético?

Dado o efeito geral da filogenia na variação do número de cromossomos e tamanho do genoma, o sinal filogenético (i.e., a tendência de espécies relacionadas parecerem entre si mais do que espécies selecionadas ao acaso; Blomberg e Garland 2002; Münkemüller *et al.* 2012) será estimado usando o parâmetro de Pagel lambda (λ ; Pagel 1999) utilizando o pacote ‘phytools’ (Revell *et al.* 2010, 2012) no ambiente R.

Etapas 3: Análises macroecológicas - correlações estatísticas (Fig. 1 - quadro 5)

As análises macroecológicas seguirão metodologias descritas em Moraes *et al.* (2022). Para testar se a ploidia e o tamanho do genoma estão correlacionados ao hábito (e outras possíveis variáveis ecológicas a serem catalogadas), faremos regressões logísticas via o teste de GLM (*Generalized Linear Model*). O GLM utilizará as variáveis citogenética separadamente contra o conjunto de variáveis ecológicas selecionadas. A análise será feita utilizando os pacotes ‘MuMIn’ (Bartoń 2020) e ‘corrplot’ (Wei e Simko 2021) no ambiente R. Os Modelos Máximos para cada variável preditora serão obtidos e todos os modelos serão classificados de acordo com seus pesos AICc para identificar os Melhores Modelos. Para cada um dos Melhores Modelos, serão avaliados os gráficos de diagnóstico para verificar se as suposições de regressão foram atendidas.

5. DESCRIÇÃO DA INFRAESTRUTURA & VIABILIDADE DO PROJETO

O trabalho será feito ligado ao Laboratório de Evolução e Diversidade III (Bloco Delta/Lab 103) da Universidade Federal do ABC. Os *softwares* a serem utilizados na execução do projeto são todos de código aberto, permitindo que todos sejam instalados nos computadores do laboratório. O projeto está vinculado a um projeto maior que visa a

elaboração de um banco de dados citogenéticos que contemple toda a subfamília Epidendroideae (Orchidaceae) [FAPESP 2022/05890-3, em análise].

6. CRONOGRAMA

Atividade	2021	2022	
	Set-Dez	Jan-Abr	Mai-Ago
Dados ecológicos: Catalogação dos dados de hábito			
Análises macroevolutivas: Independência das variáveis citogenéticas			
Análises macroevolutivas: Seleção de modelo evolutivo			
Análises macroevolutivas: Sinal filogenético das variáveis citogenéticas			
Análises macroecológicas: Análise da correlação entre variáveis citogenéticas e hábito			
Escrita de resumo para apresentar na Semana da Biologia			
Escrita de resumo para apresentar na SBE (Virtua Meeting of Systematics, Biogeography, and Evolution)			
Escrita do relatório			
Apresentação no Salão de IC da UFABC	*Data a ser confirmada pela ProPes		

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATEMAN, R. M., A. M. PRIDGEON, AND M. W. CHASE. 1997. Phylogenetics of subtribe Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences. 2. Infrageneric relationships and reclassification to achieve monophyly of *Orchis sensu stricto*. *Lindleyana* 12: 113–141.

BLOMBERG, S. P., and T. GERLAND Jr. 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *J. Evol. Biol.* 15:899–910

BUTLER, MA, KING AA. 2004. Phylogenetic comparative analysis: A modeling approach for adaptive evolution. *Am Nat* 164: 683–695.

CAMERON, K. M. 2001. An expanded phylogenetic analysis of Orchidaceae using three plastid genes: *rbcL*, *atpB*, and *psaB*. *American Journal of Botany* 88: 104.

CARLSWARD, B. S.; WHITTEN, W. M.; WILLIAMS N. H. AND BYTEBIER, B. 2006. Molecular Phylogenetics of Vandaeae (Orchidaceae) and the Evolution of Leaflessness. *American Journal of Botany* 93(5): 770–86.

CHASE, M. W., AND J. D. PALMER. 1989. Chloroplast DNA systematics of lilioid monocots: resources, feasibility, and an example from the Orchidaceae. *American Journal of Botany* 76: 1720–1730.

CHASE, M. W., J. V. FREUDENSTEIN, K. M. CAMERON, AND R. L. BARRETT. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barrett, and P. J. Cribb [eds.], *Orchid conservation*, 69–89. Natural History Publications, Kota Kinabalu, Malaysia

CHASE, M. W. *et al.* 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 177, n. 2, p. 151–174.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG J. W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, v. 261, n. 3, p. 201–217.

CRESSLER CE, BUTLER MA, KING AA. 2015. Detecting adaptive evolution in phylogenetic comparative analysis using the Ornstein-Uhlenbeck model. *Systematic Biology* 64: 953–968.

DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the orchid family*. Dioscorides Press. Portland, Oregon. 314 p.

DRESSLER, R. L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

DRESSLER, R. L. 1989. The vandoid orchids: a polyphyletic grade? *Lindleyana* 4: 89–93.

DRESSLER, R. L., AND C. H. DODSON. 1960. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 47: 25–68.

FREUDENSTEIN, J. V., AND F. N. RASMUSSEN. 1999. What does morphology tell us about orchid relationships? A cladistic analysis. *American Journal of Botany* 86: 225–248.

FREUDENSTEIN, J. V.; CHASE, M. W. 2015. Phylogenetic relationships in Epidendroideae (Orchidaceae), one of the great flowering plant radiations: progressive specialization and diversification. *Ann. Bot.* 115, 665–681.

GARAY, L. A. 1972a. On the origin of the Orchidaceae II. *Journal of the Arnold Arboretum* 53: 202–215.

GIVNISH, T. J. *et al.* 2015. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 282, n. 1814.

GIVNISH, T. J. *et al.* 2016. Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*, v. 43, n. 10, p. 1905–1916.

HARMON LJ, LOSOS JB, JONATHAN DAVIS T, GILLESPIE RG, GITTLEMAN JL, BRYAN GENNINGS W, KOZAK KH, MCPEEK MA, MORENO-ROARK F, Near TJ *et al.* 2010. Early bursts of body size and shape evolution are rare in comparative data. *Evolution* 64: 2385–2396.

MUNKEMULLER, T., LAVERGNE, S., BZEZNIK, B., DRAY, S., JOMBART, T., SCHIFFERS, K., & THUILLER, W. 2012. How to measure and test phylogenetic signal. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(4), 743–756. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00196.x>

LEITCH, I. J. *et al.* 2009. Genome size diversity in orchids: consequences and evolution. *Annals of botany*, v. 104, p. 469–481.

ORME D, FRECKLETON R, THOMAS G, PETZOLDT T. The caper package: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R. R Package Version.

PABST, G. F. J & DUNGS F. 1975. *Orchidaceae Brasilienses*, v. 1, Kurt Schmersow, Hildesheim, p. 408.

PABST, G. F. J. & DUNGS, F. 1977. *Orchidaceae Brasilienses*. v. 2. Kurt Schmersow, Hildeshei, p. 418.

PAGEL, M. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401:877–884.

PENNELL, M. W., EASTMAN, J. M., SLATER, G. J., BROWN, J. W., UYEDA, J. C., FITZJOHN, R. G., ALFARO, M. E., & HARMON, L. J. 2014. Geiger v2.0: An expanded suite of methods for fitting macroevolutionary models to phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 30(15), 2216–2218. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu181>.

POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. 1988. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nordic Journal of Botany*, v. 8, n. 2, p. 117-137.

PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. W.; RASMUSSEN, F. N. 2014. *Genera Orchidacearum*. Volume 6. Epidendroideae (Parte très). Oxford University Press, Oxford, UK. 565 p.

REVELL, LJ. 2012. Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3: 217–223.

SERNA-SÁNCHEZ, M. A. *et al.* 2021. Plastid phylogenomics resolves ambiguous relationships within the orchid family and provides a solid timeframe for biogeography and macroevolution. *Sci. Rep.* 11, 1–11.

SZLACHETKO, D. L. 1995. Systema Orchidarium. Fragmenta Floristica et Geobotanica Supplementum 3: 1–152.

ULLOA, C. U. *et al.* An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science*, v. 358, n. 6370, p. 1614–1617, 2017.

VAN DEN BERG, C., D. H. GOLDMAN, J. V. FREUDENSTEIN, A. M. PRIDGEON, K. M. CAMERON, AND M. W. CHASE. 2005. An overview of the phylogenetic relationships within Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of the Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92: 613– 624.