



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3º Andar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

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

**Título do projeto:** Macroecologia, macroevolução e caracteres citogenéticos: análises das tribos inferiores da subfamília Epidendroideae Lindl. (Orchidaceae Juss.)

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

**Área do conhecimento do projeto:** Ciências Biológicas/Botânica e Genética Vegetal.

## 1. RESUMO

A família Orchidaceae é uma das famílias botânicas mais diversas, tanto em número de espécies, distribuição geográfica, como em caracteres citogenéticos. Os caracteres como o número cromossômico e o tamanho de genoma podem estar relacionados com aspectos ecológicos das espécies como o hábito. Uma vez que tais análises macroecológicas, integrando dados citogenéticos e ecológicos, dependem obrigatoriamente de um *background* evolutivo que só pode ser oferecido por hipóteses filogenéticas robustas, este projeto visa utilizar o levantamento de dados citogenéticos e a filogenia obtida de tribos da subfamília Epidendroideae [projetos PDPD (2020-2021) e PIBIC (2021-2022)] para analisar as associações entre número cromossômico, tamanho de genoma e hábito nessas espécies empregando sempre a correção filogenética. Adicionalmente, este projeto visa disponibilizar os dados obtidos criando um banco de dados virtual.

## 2. INTRODUÇÃO CONTEXTUALIZANDO O PROJETO

### 2.1. A FAMÍLIA ORCHIDACEAE E SUA DIVERSIDADE

Orchidaceae Juss. é a maior família de angiospermas (Christenhusz & Byng 2016, Ulloa *et al.* 2017), apresentando grande diversidade de espécies e ampla distribuição geográfica, em especial nos Neotrópicos (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), essa família conta atualmente com cerca de 28 mil espécies distribuídas em 880 gêneros organizados em cinco subfamílias (Freudenstein & Chase 2015, Chase *et al.* 2015): Apostasioideae (40-90 Ma), Vanilloideae (80-84 Ma), Cypripedioideae (31-76 Ma), Orchidoideae (57-64 Ma) e Epidendroideae (44-64 Ma) (idades de acordo com Givnish *et al.* 2016 e Serna-Sánchez *et al.* 2021, respectivamente).

A adaptabilidade de uma espécie às condições ambientais afeta diretamente sua distribuição espacial, uma vez que, segundo Ridley (2006, p. 518-520), “uma espécie é capaz de tolerar uma certa variedade de fatores físicos – temperatura, umidade e assim por diante – e, teoricamente, poderia viver em qualquer lugar em que esses limites de tolerância fossem

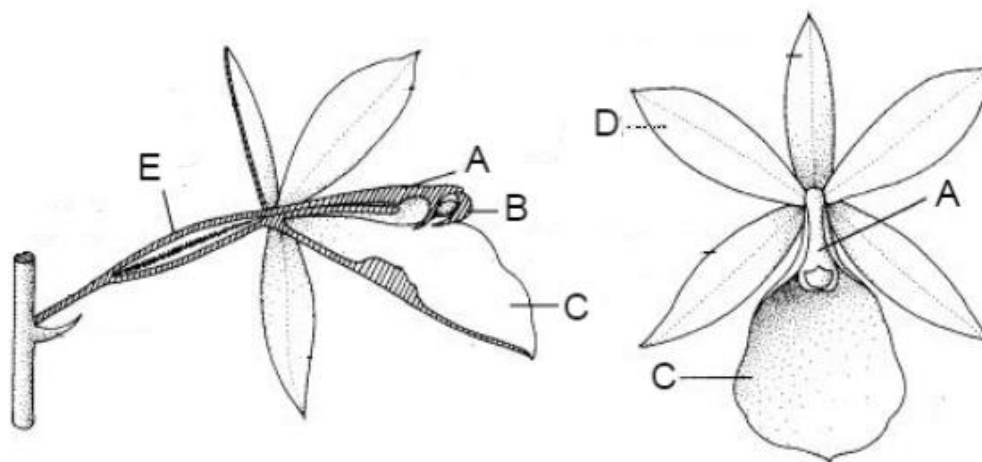
satisfeitos”. Nesse sentido, os integrantes da família Orchidaceae apresentam adaptações que os possibilitam ocupar quase todos os ambientes terrestres, em diferentes altitudes e biomas, de savanas a florestas tropicais e subtropicais, além de apresentar diversos hábitos, como terrestre, terrícola, epífita ou rupícola (Pabst & Dungs 1975, 1977). A ampla distribuição geográfica observada nas orquídeas pode estar relacionada à alta diversidade morfológica das suas espécies e também refletida na alta diversidade genética (Givnish *et al.* 2016).

## 2.2 CARACTERES PARA CLASSIFICAÇÃO DAS ORQUÍDEAS: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, SEQUÊNCIAS DE DNA E A CITOGENÉTICA

Apesar da grande variedade de estruturas morfológicas, existem características que permitem identificar os membros da família. As características diagnose da família Orchidaceae são (1) coluna, também chamada de ginostêmio (ver Fig. 1A), formada pela fusão do filete, que compõe, junto com a polínia (representando abaixo do capuz; ver Fig. 1B), a estrutura masculina da flor (androceu), e do estilete, que compõe, junto com o estigma e o ovário (ver Fig. 1E), a estrutura feminina (gineceu). Outra estrutura importante é o labelo, uma pétala modificada, normalmente, bastante chamativa (ver Fig. 1C). Porém, outras características são marcantes nas espécies de orquídeas como a presença (1) de polínia (Fig. 1B), estrutura formada pela união dos grãos de pólen e presente em apenas duas famílias vegetais (Orchidaceae a Apocynaceae, mas com diferenças estruturais), (2) de sementes diminutas sem endosperma, o que faz necessária a interação com fungos micorrízicos para germinação, (3) a polinização por abelhas Euglossini ou Lepidoptera, como borboletas e mariposas, (4) o frequente hábito epífita, em que uma planta cresce sobre outra, utilizando-a como suporte, na região neotropical e (5) a frequente fotossíntese CAM (do inglês, *crassulacean acid metabolism*, ou metabolismo ácido das crassuláceas), uma adaptação ecofisiológica em que os estômatos, células responsáveis pela absorção de gás carbônico, só se abrem à noite, quando as condições ambientais favorecem a menor transpiração e perda de água (Dressler 1993, Pinheiro *et al.* 2004).

Essas características são algumas das principais responsáveis pela grande diversidade morfológica e ecológica observada em orquídeas (Givnish *et al.* 2015). A maioria dos sistemas de classificação da família Orchidaceae criados até hoje tem sua base nas

características do ginostêmio, da antera e das polínia (Pinheiro *et al.* 2004) para classificar, descrever e relacionar as espécies.



**Fig 1.** Estrutura da flor. (A) Ginostêmio/coluna. (B) Capuz recobrindo a polínia (antera). (C) Labelo. (D) Pétala. (E) Ovário. Modificado a partir de Dressler (1993).

Apesar de muito úteis, a grande diversidade de estruturas vegetativas e, principalmente, florais na família também dificulta o estabelecimento de relações de parentesco entre as espécies e gêneros (Pinheiro *et al.* 2004). Entretanto, com o avanço das tecnologias de análise molecular, dados de sequência de DNA passaram a ser os mais utilizados na sistemática, revelando que algumas das características morfológicas antes utilizadas para delimitar espécies eram, na verdade, fruto de convergências evolutivas (*i.e.*, quando um caráter evolui independentemente em duas espécies, possuindo origens diferentes) (Chase *et al.* 2015, Dressler 1993, Ridley 2006). Hoje, as sequências de DNA têm sido a principal característica utilizada para delimitar e relacionar espécies. Entretanto, antes da popularização do uso de dados moleculares, os dados cromossômicos foram amplamente empregados. As características do cariótipo não dependem da expressão dos genes, da fase de desenvolvimento e das condições ambientais, sendo elas o resultado de muitas forças que agem sobre o genoma a níveis estruturais, funcionais e organizacionais (Guerra 2008, 2012). Desta forma, o cariótipo é o genoma em si, incluindo informações como o tamanho, número e morfologia dos cromossomos, os padrões de banda, a posição cromossômica dos DNAs satélites e de qualquer outra sequência de DNA passível de mapeamento (Greilhuber 1995, Guerra 2012). Todos esses fatores fazem do estudo do cariótipo uma excelente fonte de

informação para os estudos taxonômicos e evolutivos (Guerra 2012), porém com muita cautela e apenas em estudos em grupos taxonômicos menores ou dentro da espécie, uma vez que hoje se sabe que tais caracteres são homoplásicos (*i.e.*, características similares, mas que possuem origens evolutivas independentes).

Entretanto, isso não invalida o estudo citogenético, uma vez que o uso de tais dados vai além da taxonomia. Recentemente muitos estudos unindo o conhecimento dos caracteres cromossômicos com dados filogenéticos têm permitido interpretar os cariótipos à luz da evolução e com base em tais dados, realizar inferências quanto à evolução cromossômica e as relações das espécies.

Dentre as informações que podem ser descritas através do estudo do cariótipo está o número cromossômico, a primeira característica obtida e a mais simples e barata de se obter - até por isso é a característica mais descrita para as espécies vegetais. Este dado citotaxonômico é conhecido para quase todas as famílias e maioria dos gêneros de plantas (Guerra 2008, 2012).

Durante o processo evolutivo, variações no número cromossômico aconteceram devido a dois processos: a disploidia e a poliploidia (Guerra 2012), o último sendo considerado o mais impactante na evolução das plantas (Jiao *et al.* 2011), uma vez que se estima que todas as angiospermas atuais derivam de ancestrais que passaram por, no mínimo, um evento de poliploidia (Magallón *et al.* 2019). As espécies poliplóides possuem três ou mais genomas (*i.e.*, o total de DNA em um conjunto básico de cromossomos, como encontrado em um pólen maduro ou no núcleo do óvulo antes da fertilização) por núcleo celular ao invés de dois, como no caso das diplóides (Leitch & Bennett 1997).

Desse modo, o número cromossômico torna-se uma valiosa ferramenta para o estudo evolutivo das espécies já que, a partir dele, é possível obter o “número base” ou o “número cromossômico original”, que, segundo Guerra (2000), pode ser definido como “o número cromossômico haplóide que explica mais parcimoniosamente a variabilidade cromossômica do clado em estudo e mostra uma relação clara com o número básico dos grupos relacionados mais próximos”. Dessa forma, a identificação do número base só pode ser feita após uma criteriosa análise dos números cromossômicos registrados para o grupo em questão, analisados à luz da história evolutiva do grupo (Guerra 2008).

Outro dado citogenético que é alvo de interesse nas últimas décadas é o tamanho de genoma (GS, do inglês, *genome size*). Por definição, o GS é a quantidade de DNA no núcleo

haplóide não replicado, o que também pode ser chamado de valor C (Greilhuber *et al.* 2005). Desde a publicação da primeira estimativa de GS para uma planta por Ogur *et al.* (1951), a importância desse dado vêm sendo cada vez mais reconhecida, uma vez que ele pode possuir relação com outros traços ecológicos e evolutivos (Greilhuber & Leitch 2013, Pellicer *et al.* 2018).

### 2.3 IMPACTO DAS VARIAÇÕES CROMOSSÔMICAS NA ECOLOGIA DAS ESPÉCIES

Os nichos são determinados pelos requisitos abióticos das espécies, os quais podem ser limitados por (ou limitar) caracteres citogenéticos como o número de cromossomos (Ramsey & Ramsey 2014; Blaine Marchant *et al.* 2016; Rice *et al.* 2019; Rezende *et al.* 2020; Baniaga *et al.* 2020) e o tamanho do genoma (Pellicer *et al.* 2018; Blommaert 2020; Roddy *et al.* 2020).

Como dito anteriormente, a alteração cromossômica mais impactante é a poliploidia, sugerida como um dos principais mecanismos de evolução das angiospermas (Jiao *et al.* 2011; Jiao 2018; Magallón *et al.* 2019). Estudos sobre ecologia dos poliplóides sugerem a associação de elevados níveis de ploidia com respostas a diferentes pressões ambientais (revisado em te Beest *et al.* 2012), favorecendo a ocupação de novos ambientes, extremos ou adversos (Ramsey e Ramsey 2014; Doyle e Coate 2019; López-Jurado *et al.* 2022; Moraes *et al.* 2022). Assim, aceita-se que a poliploidia seja um mecanismo capaz de promover mudanças de nicho, podendo, até mesmo, promover mudanças na montagem e dinâmica da comunidade (Baduel *et al.* 2018; Rice *et al.* 2019; Rezende *et al.* 2020; Fox *et al.* 2020; Van de Peer *et al.* 2021). Acredita-se que isso deva-se ao aumento do número de cópias de genes, em conjunto com a potencial de criação de novos genes, eventos que podem promover a sobrevivência em ambientes variáveis (Leidinger *et al.* 2021).

Ao dobrar o genoma, a poliploidia afeta diretamente o tamanho do genoma, outra característica citogenética com potencial de alterar o nicho ecológico. As mudanças no tamanho de genoma têm por consequência um conjunto de efeitos nucleotípicos (*i.e.*, características fenotípicas influenciadas pela quantidade bruta de DNA) que podem ser observados desde a escala micro até macromorfológica (Knight *et al.* 2005; Beaulieu *et al.* 2007; Knight e Beaulieu 2008; Beaulieu *et al.* 2008; Doyle e Coate 2019), afetando também

características funcionais, como a taxa fotossintética (Beaulieu *et al.* 2007; Roddy *et al.* 2020), velocidade do ciclo celular (quanto maior o tamanho do genoma, menor a velocidade; Francis *et al.* 2008) e tempo do ciclo de vida das espécies (quanto maior o tamanho do genoma, maior o tempo mínimo de uma geração; Levin 2020). Ao interferir em tais características essenciais, sugere-se que o tamanho do genoma possa apresentar associações com características ecológicas como latitude, variáveis bioclimáticas, ecorregiões, altitude e hábito (eg., Leitch *et al.* 2009; Trávníček *et al.* 2019; Souza *et al.* 2019; Veselý *et al.* 2020; Moraes *et al.* 2022), potencialmente afetando a diversificação adaptativa (Kang *et al.* 2014; Simonin e Roddy 2018; Pellicer *et al.* 2018; Trávníček *et al.* 2019; Carta *et al.* 2020; Faizullah *et al.* 2021).

O hábito epifítico parece ter uma associação clara com tamanho do genoma compacto (Leitch *et al.* 2009; Trávníček *et al.* 2019; Moraes *et al.* 2022). Em orquídeas, o hábito epifítico é considerado uma inovação importante ligada à diversificação da família, estando associado à colonização de ambientes parcialmente desocupados no Neotrópico (Freudenstein & Chase 2015; Givnish *et al.* 2015). A reversão do hábito epifítico para terrestre também foi associada à colonização de ambientes mais extremos, como evidenciado pela origem de grupos de orquídeas adaptadas à aridez na tribo Epidendreae (Freudenstein & Chase 2015; Sosa *et al.* 2016). Entretanto, em todos os estudos é possível detectar um viés amostral para um ou outro tipo de hábito, sendo desejável ampliar essas abordagens para grupos mais variáveis contemplando espécies com todos os tipos de hábito possíveis para orquídeas (terrestre, terrícola, litofítico, além de epifítico). Nesse sentido, estudos voltados para clados Neotropicais mais amplos e representativos, como a subfamília Epidendroideae, devem trazer resultados mais robustos sobre associações entre caracteres citogenéticos e ecológicos.

Desta forma, entender como os caracteres citogenéticos e ecológicos se relacionam é fundamental para compreender a evolução das espécies vegetais. Entretanto, para isso, é necessário o emprego de métodos comparativos filogenéticos (Butler & King 2004; Paradis 2014), tornando obrigatório o conhecimento das relações filogenéticas das espécies foco de estudo.

## 2.4 BANCOS DE DADOS CITOGENÉTICOS

Portanto, dada a importância dos caracteres citogenéticos citados, é evidente a importância da divulgação e do fácil acesso a esses dados a fim de contribuir para com pesquisas futuras. O acesso à informação é a base da pesquisa científica. Qualquer projeto científico precisa, inicialmente, revisar o conhecimento já obtido previamente por outros pesquisadores. Quanto mais fragmentada estiverem as informações, maior é o tempo gasto para revisá-las e reuni-las e maior é o risco de que algum dado se perca. Os dados citogenéticos da família Orchidaceae são um exemplo de dados vaporizados na literatura, com inúmeros trabalhos sendo publicados desde a primeira metade do século XX até hoje. Nesse sentido, destacam-se os bancos de dados como uma ferramenta extremamente útil para a busca rápida e efetiva de dados. Atualmente, existem alguns bancos de dados da área de citogenética que funcionam como uma valiosa fonte para pesquisadores, como o Plant DNA C-values (Leitch & Pellicer 2019), Chromosome Count DataBase (CCDB; Rice *et al.* 2015), B-chrom (D'Ambrosio *et al.* 2017), Plant rDNA DataBase (Vitales *et al.* 2018), Sex-Chrom (Baránková *et al.* 2020), cada um disponibilizando um tipo de informação diferente: tamanho de genoma, número cromossômico, cromossomos B, DNA ribossômico e cromossomos sexuais, respectivamente. Contudo, ainda não há um banco de dados voltado especificamente para o número cromossômico de orquídeas e os bancos existentes apresentam uma grande falha no que se refere aos dados de orquídeas, em especial as do Neotrópicos, que são preteridas em relação a espécies da Europa e América do Norte. A elaboração de um banco de dados citogenéticos para Orchidaceae tem como objetivo mitigar esse *gap*, reunindo os dados sobre número cromossômico dispersos na literatura. Devido à grande quantidade de espécies dessa família, este projeto pretende focar em um grupo específico: as tribos inferiores da subfamília Epidendroideae.

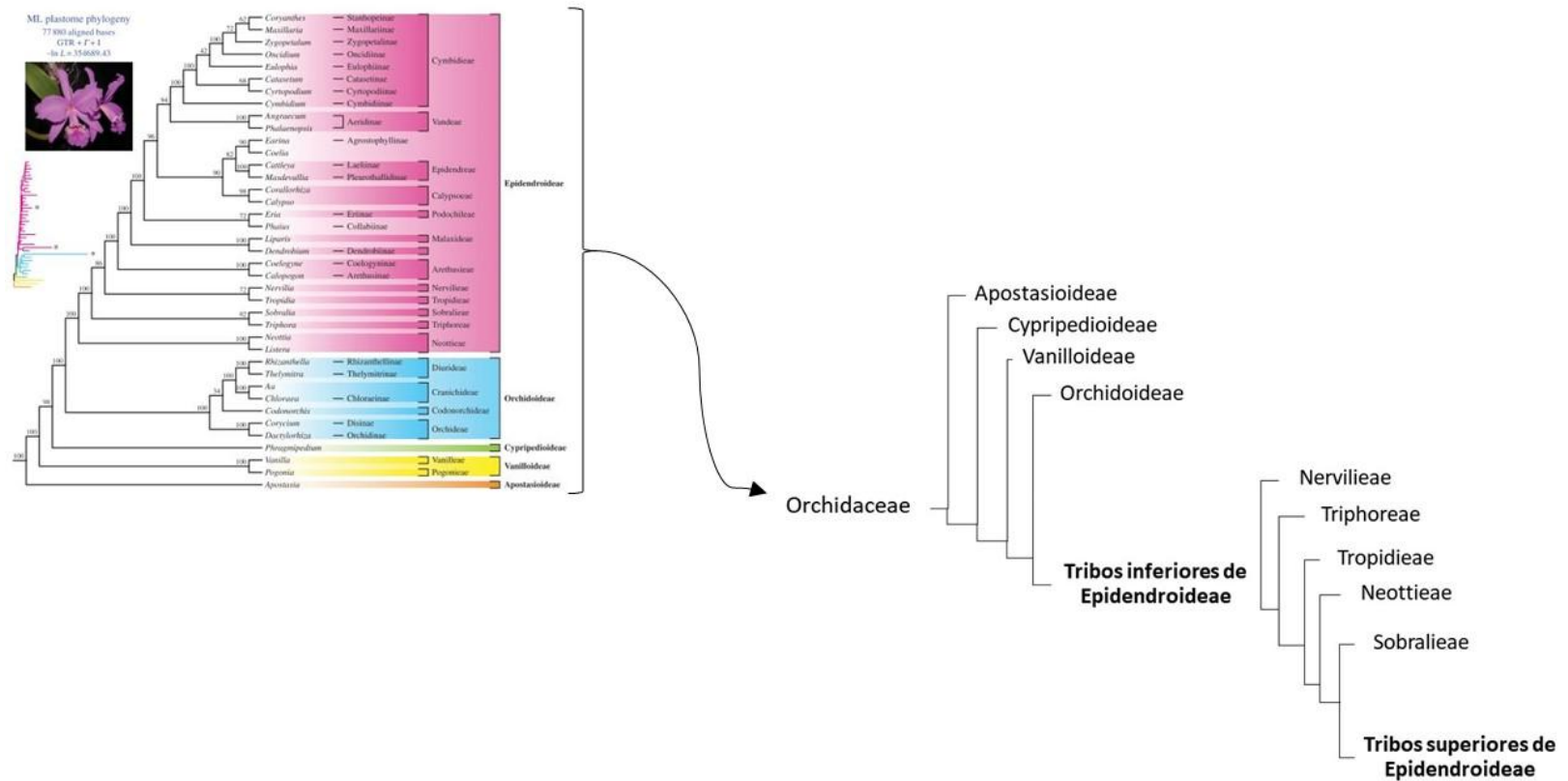
## 2.5 SUBFAMÍLIA EPIDENDROIDEAE AS TRIBOS INFERIORES

Dentre as subfamílias, Epidendroideae destaca-se por ser a maior, agrupando aproximadamente 20 mil espécies que representam 76% de toda a família Orchidaceae (Freudenstein & Chase 2015). Compreender a diversificação desse grupo é um dos principais objetivos nos estudos de diversificação, sistemática e biogeografia (Freudenstein & Chase



2015, Serna-Sánchez *et al.* 2021), uma vez que esta subfamília reflete, em muito, a diversificação da própria família.

Epidendroideae é composta por 14 tribos que se dividem em dois grupos: tribos superiores (ou “epidendroides superiores”) e tribos inferiores (ou “epidendroides inferiores”) (Pridgeon *et al.* 2006) (Fig. 2). As tribos inferiores são um grupo parafilético (*i.e.*, incluem apenas um grupo de descendentes de um ancestral comum). Suas flores caracterizam-se por apresentarem apenas uma antera incumbente mais ou menos persistente, com polínias moles e granulosas, de estigma inteiro ou trilobado e algumas vezes com viscido, quase sempre com rostelo, e ovário com apenas uma câmara. Normalmente possuem hábito terrestre, rupícola, ou húmida, um tipo raro de saprófita. De acordo com Pridgeon *et al.* (2006), as tribos inferiores são compostas pelas tribos: Xerorchideae P.J.Cribb; Sobralieae Schlechter; Tropidieae Dressler; Triphoreae Dressler; Neottieae Lindley; Gastrodieae Lindley e Nervilieae Dressler.



**Fig 2.** Filogenia da família Orchidaceae com ênfase na subfamília Epidendroideae e suas tribos. Modificado a partir de Givnish *et al.* (2015).

### **3. BREVE DESCRIÇÃO DOS OBJETIVOS E METAS**

O presente projeto visa realizar análises macroecológicas e macroevolutivas das tribos inferiores da subfamília Epidendroideae utilizando o levantamento de dados citogenéticos de número cromossômico e tamanho de genoma e a filogenia do grupo obtidas em um projeto PIBIC anterior. Além do levantamento de dados e da filogenia, tal projeto também performou análises de evolução cromossômica, inferência de ploidia para as espécies presentes na árvore filogenética e reconstrução de estado ancestral de número cromossômico e tamanho de genoma (em andamento no momento da submissão desse projeto). Os dados obtidos no PIBIC (2021/2022) serão utilizados integralmente neste projeto.

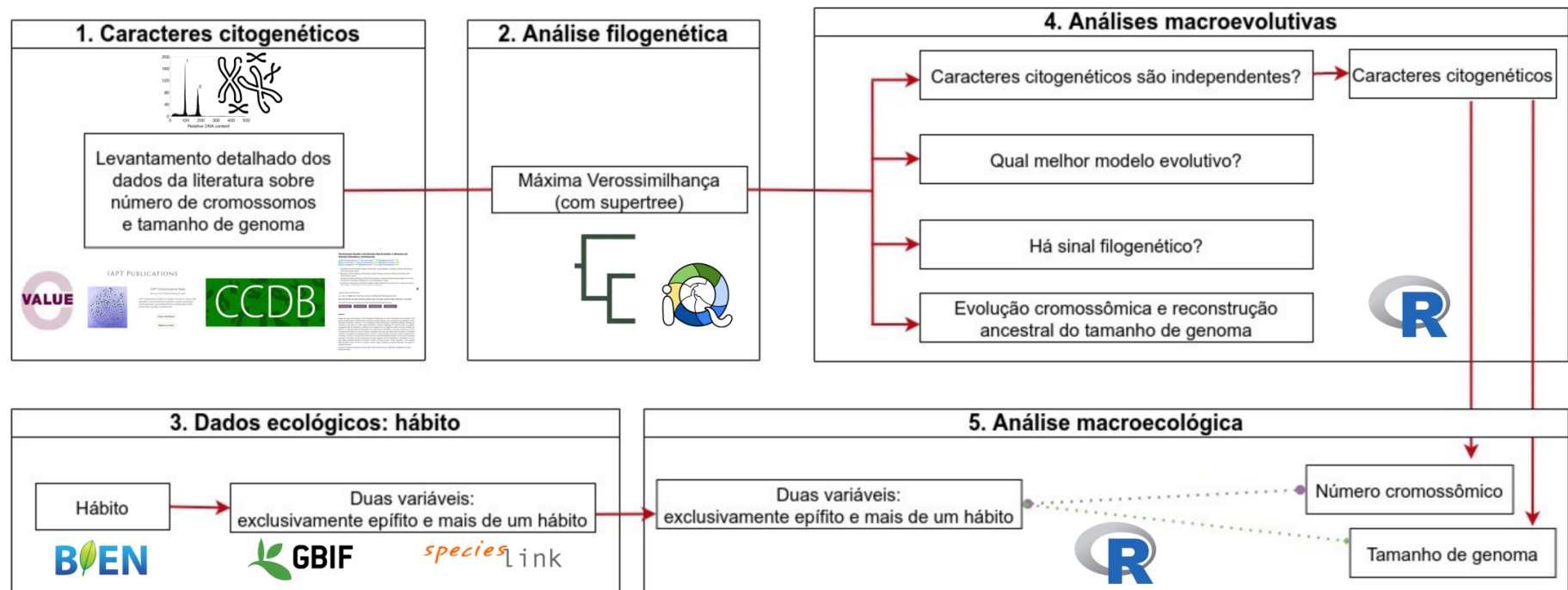
As análises propostas no atual projeto visam responder as seguintes perguntas:

- a) Há associação entre nível de ploidia e/ou tamanho de genoma com o hábito?
- b) Há associação entre nível de ploidia e/ou tamanho de genoma com o número de hábitos alternativos nas espécies das tribos analisadas?

Adicionalmente, o projeto também visa a elaboração de um *website* para disponibilização e divulgação do banco de dados citogenéticos de Orchidaceae, resultado não apenas do levantamento de dados das tribos inferiores, mas também de toda a subfamília Epidendroideae.

### **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 das tribos basais da subfamília Epidendroideae, além da reconstrução da filogenia (veja quadros 1 e 2 na Fig. 3). Ambos dados serão utilizados neste projeto que iniciará com o levantamento do hábito (quadro 3 na Fig. 3), para então prosseguir para as análises macroevolutivas (quadro 4 na Fig. 3) e macroecológicas (quadro 4 na Fig. 3).



**Fig 3.** 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.

### **Etapa 1: Dados ecológicos: hábito (Fig. 3 - 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>) e Flora do Brasil 2020 (Flora do Brasil 2020; <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>), além de consulta a especialistas e dados do grupo. Com base nas informações de hábitos, serão definidas duas variáveis ecológicas: “número de hábitos alternativos possíveis” e “exclusivamente ou não exclusivamente epífitas”. Dado esse arcabouço gerado, novas variáveis ecológicas podem facilmente serem adicionadas ao *dataset*, como, por exemplo, informações quanto à biologia reprodutiva.

### **Etapa 2: Análises macroevolutivas (Fig. 3 - 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 ( $\lambda$ ; Pagel 1999) utilizando o pacote ‘phytools’ (Revell et al. 2010, 2012) no ambiente R.

### **Etapa 3: Análises macroecológicas - correlações estatísticas (Fig. 3 - 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.

### **Etapa 4: Elaboração do ambiente web do banco de dados citogenéticos**

A estrutura do banco de dados será criada no servidor MySQL (<https://www.mysql.com/>), para o qual a planilha resultante do levantamento de dados de número cromossômico e tamanho de genoma de Epidendroideae será exportada. O site será elaborado utilizando os *frameworks* Bootstrap (<https://getbootstrap.com/>), para o desenvolvimento da interface do website utilizando HTML, CSS e JavaScript, e Laravel (<https://laravel.com/>), para a implementação do servidor e do banco de dados utilizando PHP. Paralelamente, estamos avaliando o uso da plataforma WordPress para construção do site.

## **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
<b>Dados ecológicos:</b> Catalogação dos dados de hábito			
<b>Análises macroevolutivas:</b> Independência das variáveis citogenéticas			
<b>Análises macroevolutivas:</b> Seleção de modelo evolutivo			
<b>Análises macroevolutivas:</b> Sinal filogenético das variáveis citogenéticas			
<b>Análises macroecológicas:</b> Análise da correlação entre variáveis citogenéticas e hábito			
Criação do site de Dados Citogenéticos de Orchidaceae			
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

BADUEL, P. *et al.* The “Polyploid Hop”: Shifting Challenges and Opportunities Over the Evolutionary Lifespan of Genome Duplications. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, 2018.

BANIAGA, A. E. *et al.* Polyploid plants have faster rates of multivariate niche differentiation than their diploid relatives. **Ecology Letters**, v. 23, n. 1, p. 68–78, 2020.

BARÁNKOVÁ, S. *et al.* Sex-chrom, a database on plant sex chromosomes. **New Phytologist**, v. 227, n. 6, p. 1594–1604, 2020.

BARTON, K. Package ‘MuMI’ version 1.46.0. **R Package**. 2022.

- BEAULIEU, J. M. *et al.* A. Genome Size Evolution in Relation to Leaf Strategy and Metabolic Rates Revisited. **Annals of Botany**, v. 99, n. 3, p. 495–505, 2007.
- BEAULIEU, J. M. *et al.* Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 975–986, 2008.
- BENNETT, M. D. *et al.* DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany*, v. 82, p. 121–134, 1988.
- BLAINE MARCHANT, D. *et al.* Patterns of abiotic niche shifts in allopolyploids relative to their progenitors. **New Phytologist**, v. 212, n. 3, p. 708–718, 11 nov. 2016.
- BLOMBERG, S. P.; GARLAND, T. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, n. 6, p. 899–910, 2002.
- BLOMMAERT, J. Genome size evolution: towards new model systems for old questions. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 287, n. 1933, p. 20201441, 2020.
- BUTLER, M. A.; KING, A. A. Phylogenetic Comparative Analysis: A Modeling Approach for Adaptive Evolution. **The American Naturalist**, v. 164, n. 6, p. 683–695, 2004.
- CARTA, A.; BEDINI, G.; PERUZZI, L. A deep dive into the ancestral chromosome number and genome size of flowering plants. **New Phytologist**, v. 228, n. 3, p. 1097–1106, 2020.
- CHASE, M. W. *et al.* An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 2, p. 151–174, 2015.
- CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plant species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201–217, 2016.
- CRESSLER, C. E. *et al.* Detecting Adaptive Evolution in Phylogenetic Comparative Analysis Using the Ornstein–Uhlenbeck Model. **Systematic Biology**, v. 64, n. 6, p. 953–968, 2015.
- D’AMBROSIO, U. *et al.* B-chrom: A database on B-chromosomes of plants, animals and fungi. **New Phytologist**, n. 2007, p. 635–642, 2017.
- DOYLE, J. J.; COATE, J. E. Polyploidy, the Nucleotype, and Novelty: the impact of genome doubling on the biology of the cell. **International Journal of Plant Sciences**, v. 180, n. 1, p. 1–52, 2019.
- DRESSLER, R. L. **Phylogeny and Classification of the Orchid Family**. Dioscorides Press, 1993.



FAIZULLAH, L. *et al.* Exploring environmental selection on genome size in angiosperms. **Trends in Plant Science**, v. 26, n. 10, p. 1039–1049, 2021.

FELSENSTEIN, J. Maximum-likelihood estimation of evolutionary trees from continuous characters. **American Journal of Human Genetics**, v. 25, n. 5, p. 471–492, 1973.

FOX, D. T. *et al.* Polyploidy: A Biological Force From Cells to Ecosystems. **Trends in Cell Biology**, v. 30, n. 9, p. 688–694, 2020.

FRANCIS, D. *et al.* A Strong Nucleotypic Effect on the Cell Cycle Regardless of Ploidy Level. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 747–757, 2008.

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

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

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

GREILHUBER, J. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms “Genome Size” and “C-Value” to Describe Nuclear DNA Contents. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 255–260, 2005.

GREILHUBER, J.; Leitch, I. J. Genome size and the phenotype. Em: LEITCH, I. J. *et al.*, eds. Plant genome diversity. Volume 2: Physical structure, behaviour and evolution of plant genomes. **Springer**, p. 323–344, 2013.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3–4, p. 339–350, 2008.

GUERRA, M. Cytotaxonomy: The end of childhood. **Plant Biosystems**, v. 146, n. 3, p. 703–710, 2012.

HARMON, L. J. *et al.* Early bursts of body size and shape evolution are rare in comparative data. **Evolution**, p. 2385–2396, 2010.

JIAO, Y. *et al.* Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. **Nature**, v. 473, n. 7345, p. 97–100, 2011.

KANG, M. *et al.* Adaptive and nonadaptive genome size evolution in Karst endemic flora of China. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1371–1381, 2014.

KNIGHT, C. A. The Large Genome Constraint Hypothesis: Evolution, Ecology and Phenotype. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 177–190, 2005.

KNIGHT, C. A.; BEAULIEU, J. M. Genome Size Scaling through Phenotype Space. **Annals of Botany**, v. 101, n. 6, p. 759–766, 2008.

LEIDINGER, L. *et al.* Temporal environmental variation may impose differential selection on both genomic and ecological traits. **Oikos**, v. 130, n. 7, p. 1100–1115, 2021.

LEITCH, I. J. *et al.* Genome size diversity in orchids: consequences and evolution. *Annals of Botany*, v. 104, n. 3, p. 469–481, ago. 2009.

LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Polyploidy in angiosperms. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 12, p. 470–476, 1997.

LEVIN, D. A. Has the Polyploid Wave Ebbed? **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2020.

LÓPEZ-JURADO, J.; MATEOS-NARANJO, E.; BALAO, F. Polyploidy promotes divergent evolution across the leaf economics spectrum and plant edaphic niche in the *Dianthus broteri* complex. **Journal of Ecology**, v. 110, n. 3, p. 605–618, 2022.

MAGALLÓN, S. *et al.* Thirty clues to the exceptional diversification of flowering plants. *Annals of Botany*, v. 123, n. 3, p. 491–503, 2019.

MORAES, A. P. *et al.* Are chromosome number and genome size associated with habit and environmental niche variables? Insights from the Neotropical orchids. **Annals of Botany**, 2022.

MÜNKEMÜLLER, T. *et al.* How to measure and test phylogenetic signal. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, n. 4, p. 743–756, 2012.

OGUR, M. *et al.* Glutamate auxotrophs in *Saccharomyces* I. The biochemical lesion in the *glt1* mutants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 14, n. 2, p. 193–197, 1964.

ORME, C. D. L. The caper package: comparative analyses in phylogenetics and evolution in R. 2018. Disponível em <http://Caper.R-Forge.R-Project.Org/>.

PABST, GF. J. & DUNGS, F. **Orchidaceae Brasilienses**, v. 1, Kurt Schmiersow, Hildesheim, p. 408, 1995.

PABST, GF. J. & DUNGS, F. **Orchidaceae Brasilienses**. v. 2. Kurt Schmiersow, Hildeshei, p. 418, 1997.

PAGEL, M. Inferring the historical patterns of biological evolution. **Nature**, v. 401, n. 6756, p. 877–884, out. 1999.

PARADIS, E. An Introduction to the Phylogenetic Comparative Method. In: **Modern Phylogenetic Comparative Methods and Their Application in Evolutionary Biology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 3–18.

PELLICER, J. *et al.* Genome Size Diversity and Its Impact on the Evolution of Land Plants. **Genes**, v. 9, n. 2, p. 88, 2018.

PELLICER, J.; LEITCH, I. J. The Plant DNA C-values database (release 7.1): an updated online repository of plant genome size data for comparative studies. **New Phytologist**, v. 226, n. 2, p. 301–305, 2020.

PENNELL, M. W. *et al.* geiger v2.0: an expanded suite of methods for fitting macroevolutionary models to phylogenetic trees. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2216–2218, 2014.

PINHEIRO, F. *et al.* O que é uma orquídea? in Barros F. & Kerbauy G.B. (eds.) Orquidologia sul-americana: uma compilação científica. **Instituto de Botânica**. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, 2004.

PRIDGEON, A. M. *et al.* Genera Orchidacearum, Vol. 4. **Oxford University Press**., 2006.

RAMSEY, J.; RAMSEY, T. S. Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1648, p. 20130352, 2014.

REVELL, L. J. Phylogenetic signal and linear regression on species data. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 1, n. 4, p. 319–329, 2010.

REVELL, L. J. phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, n. 2, p. 217–223, 2012.

REZENDE, L. *et al.* Can plant hybridization and polyploidy lead to pollinator shift? **Acta Botanica Brasilica**, v. 34, n. 2, p. 229–242, 2020.

RICE, A. *et al.* The Chromosome Counts Database (CCDB) - a community resource of plant chromosome numbers. **New Phytologist**, v. 206, n. 1, p. 19–26, 2015.

RICE, A. *et al.* The global biogeography of polyploid plants. **Nature Ecology & Evolution**, v. 3, n. 2, p. 265–273, 2019.

RIDLEY, M. Evolução. 3ª edição. **Artmed**, 2006.

RODDY, A. B. *et al.* The Scaling of Genome Size and Cell Size Limits Maximum Rates of Photosynthesis with Implications for Ecological Strategies. **International Journal of Plant Sciences**, v. 181, n. 1, p. 75–87, 2020.

- SCHMID, R.; DRESSLER, R. L. **The Orchids: Natural History and Classification**. Systematic Botany, 1981.
- SERNA-SÁNCHEZ, M. A. *et al.* Plastid phylogenomics of the orchid family: Solving phylogenetic ambiguities within Cymbidieae and Orchidoideae. **bioRxiv**, p. 1–35, 2019.
- SERNA-SÁNCHEZ, M. A. *et al.* Plastid phylogenomics resolves ambiguous relationships within the orchid family and provides a solid timeframe for biogeography and macroevolution. **Science Reports**, v. 11, p. 1–11, 2021.
- SIMONIN, K. A.; RODDY, A. B. Genome downsizing, physiological novelty, and the global dominance of flowering plants. **PLOS Biology**, v. 16, n. 1, p. e2003706, 2018.
- SOSA, V. *et al.* Life form evolution in epidendroid orchids: Ecological consequences of the shift from epiphytism to terrestrial habit in Hexalectris. **Taxon**, v. 65, n. 2, p. 235–248, 2016.
- SOUZA, G. *et al.* Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the Caesalpinia Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 38, p. 13–23, jun. 2019.
- TE BEEST, M. *et al.* The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. **Annals of Botany**, v. 109, n. 1, p. 19–45, 2012.
- TRÁVNÍČEK, P. *et al.* Diversity in genome size and GC content shows adaptive potential in orchids and is closely linked to partial endoreplication, plant life-history traits and climatic conditions. **New Phytologist**, v. 224, n. 4, p. 1642–1656, 2019.
- 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 DE PEER, Y. *et al.* Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. **The Plant Cell**, v. 33, n. 1, p. 11–26, 2021.
- VESELÝ, P. *et al.* Environmental pressures on stomatal size may drive plant genome size evolution: evidence from a natural experiment with Cape geophytes. **Annals of Botany**, v. 126, n. 2, p. 323–330, 2020.
- VITALES, D. *et al.* Third release of the plant rDNA database with updated content and information on telomere composition and sequenced plant genomes. **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 8, p. 1115–1121, 2017.
- WEI, T.; SIMKO, V. Corrplot v. 0.84. **R Package**, 2017.