

RELAÇÕES FILOGENÉTICAS NO *CORE CUCURBITALES* (CUCURBITALES JUSS. EX BERCHT. & J. PRESL)

Viviane Maria da Silva SANTOS¹; Silmar Luiz da SILVA¹; Lucas COSTA²; Maria Angélica Oliveira MARINHO³; Reginaldo de CARVALHO¹

1 Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE; 2 Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, PE; 3 Departamento de Agronomia, Universidade Estadual do Tocantins, TO; 3 Departamento de Agronomia, Centro Universitário Luterano de Palmas, TO (vivihmss@gmail.com)

RESUMO

Cucurbitales Juss. Ex Bercht. & J. Presl. é uma ordem de angiospermas circunscrita em oito famílias que apresenta grande heterogeneidade morfológica e ampla faixa de distribuição geográfica. Suas principais famílias (Cucurbitaceae, Begoniaceae, Datisceae e Tetramelaceae) são unidas por vários caracteres morfológicos (principalmente florais) e formam um grupo bem definido denominado *core Cucurbitales*. No entanto, as relações entre essas famílias não estão totalmente compreendidas. O presente estudo consistiu numa análise Bayesiana do *core Cucurbitales*, obtida através da concatenação de oito regiões gênicas plastidiais analisadas no MrBayes (v.3.2.6), portal CIPRES Science Gateway v.3.3. O objetivo foi fornecer resolução para o *core* e solucionar relações entre as famílias. A filogenia *in silico* utilizou dados disponíveis no Genbank para as 154 espécies estudadas, incluindo o grupo externo. Obtivemos uma topologia robusta para as quatro famílias, com elevados índices de probabilidades posteriores ($pp = 1.00$). O *core Cucurbitales* também constituiu um clado suportado ($pp = 1.00$). Além disso, foi observado alto suporte estatístico para um subclado formado por Tetramelaceae+Datisceae+Begoniaceae ($pp = 1.00$), sendo Cucurbitaceae o seu grupo irmão ($pp = 1.00$). Os dados filogenéticos mostram a provável relação para o *core*: (C (T (D; B))). Além de serem congruentes com estudos anteriores, nossos resultados fornecem suporte para as relações internas do *core Cucurbitales* e uma maior resolução filogenética do grupo. (CAPES)

PALAVRAS-CHAVE: Cucurbitaceae, Evolução, Topologia.

Promoção



Realização



Apoio



INTRODUÇÃO

Cucurbitales Juss. Ex Bercht. & J. Presl. é uma ordem de angiospermas, constituída por mais 2.800 espécies que exibe morfologia externa diversa e está amplamente distribuída no globo terrestre (Matthews & Endress 2004; Zhang *et al.* 2006). Suas famílias foram equivocadamente posicionadas em até 17 ordens de eudicotiledôneas, incluindo Malpighiales, Ranunculales, Rafflesiales e Violales (Matthews & Endress 2004; Zhang *et al.* 2006; Schaefer & Renner 2011). Atualmente, Cucurbitales é circunscrita em oito famílias – Anisophylleaceae Ridl., Apodanthaceae Tiegh. Ex Takht., Begoniaceae C. Agardh, Coriariaceae DC., Corynocarpaceae Engl., Cucurbitaceae Juss., Datisceae Dumort. e Tetramelaceae Airy Shaw – com morfologia, tamanho (número de táxons) e ecologia distintas (Zhang *et al.* 2006; Schaefer & Renner 2011; APG IV 2016).

Begoniaceae, Cucurbitaceae, Datisceae e Tetramelaceae formam um subclado bem definido morfologicamente denominado *core* Cucurbitales, devido ao compartilhamento de várias características, incluindo fruto com numerosas sementes, gineceu trímero, ovário ínfero e placentação parietal (Matthews & Endress 2004; Zhang *et al.* 2006; Renner & Schaefer 2016). Entretanto, estudos moleculares não forneceram apoio estatístico para o *core* (Matthews & Endress 2004; Schaefer & Renner 2011; Renner & Schaefer 2016). Além disso, as relações precisas entre as quatro famílias não estão totalmente compreendidas, com Begoniaceae aparecendo ora como irmã de Datisceae, ora de Tetramelaceae (Zhang *et al.* 2006; Schaefer *et al.* 2009; Schaefer & Renner 2011). Considerando que Datisceae e Begoniaceae são unidas por múltiplos caracteres anatômicos do xilema (a exemplo de um parênquima axial vasicêntrico e raios multisseriados) e compartilham flores poliândricas com estames de iniciação centrípeta (Carlquist 1985; Mathews & Endress 2004), acreditamos numa possível relação de grupo irmão entre ambos os táxons.

No presente estudo, esclarecemos as relações entre as principais famílias de Cucurbitales, fornecendo alto suporte para o *core*, através da concatenação de oito sequências do genoma plastidial. Decidimos utilizar apenas regiões plastidiais, pois, filogenias mitocondriais e nucleares apresentaram fortes incongruências em relação às topologias plastidiais de *Begonia* L., tanto em trabalhos anteriores, quanto no nosso estudo (Neale *et al.*

Promoção



Realização



Apoio



2006; Hugues *et al.* 2015). Ademais, a seleção das sequências foi realizada seguindo o critério de potencial filogenético informativo, excluindo sequências que são consideradas enganosas para diferentes épocas da diversificação de Cucurbitaceae (Bellot *et al.* 2020).

MATERIAL E MÉTODOS

A nossa amostragem englobou 154 espécies distribuídas entre as famílias Cucurbitaceae (88 spp.), Begoniaceae (59 spp.), Datisceae (duas spp.), Tetramelaceae (duas spp.), Coriariaceae (duas spp.) e Corynocarpaceae (uma espécie). As duas últimas foram escolhidas para constituir o grupo externo e a árvore foi enraizada com *Corynocarpus laevigatus* J.R. Forst & G. Forst. As sequências nucleotídicas analisadas consistiram em oito regiões plastidiais (incluindo genes, íntrons e espaçadores intergênicos) obtidas no Genbank. Adicionalmente, plotamos árvores combinando os marcadores plastidiais + ITS; plastidiais + *matR* e plastidiais + ITS + *matR*, as quais foram analisadas separadamente para avaliar a congruência entre as sequências. Cada marcador foi alinhado individualmente através do algoritmo Muscle, no Mega-X (Kumar *et al.* 2018), seguido de ajuste manual. Posteriormente, os alinhamentos foram concatenados em uma supermatriz, utilizando o software Mesquite v.3.01 (Maddison & Maddison 2018), cujo modelo de substituição de nucleotídeos selecionado pelo jModelTest 0.1.1 (Posada 2008) foi o GTR+I+G, com base no critério de informação de Akaike (AIC).

A análise Bayesiana foi processada no pacote MrBayes (v.3.2.6), através do portal CIPRES Science Gateway v.3.3 (Miller *et al.* 2010). Foram realizadas duas corridas, com quatro cadeias de Markov e 10.000.000 gerações de amostragem, a cada 1.000 árvores. A convergência das cadeias foi verificada através do Tracer v.1.7 (Rambaut *et al.* 2018). 25% das árvores amostradas foram descartadas e foram calculadas as probabilidades posteriores (*pp*) das árvores restantes para a construção de uma árvore de consenso. A posteriori, as árvores foram visualizadas no FigTree v1.3.1 (Rambaut 2009) e editadas no Adobe Photoshop CC 2020 21.2.3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Promoção



Realização



Apoio



Para as regiões gênicas *matK*, *ndhA* (ínton), *ndhF-rpL32*, *rbcL*, *rps20-rpl12*, *rpl32-trnL*, *trnL* e *trnL-F*, obtivemos dados para 102, 73, 59, 112, 84, 57, 50 e 102 espécies, com comprimentos de 1589, 2505, 1256, 1433, 957, 1715, 679 e 1345 pares de bases, respectivamente. A matriz concatenada contém 11479 pb. As árvores baseadas numa combinação de regiões plastidiais + nucleares e/ou mitocondriais apresentaram valores de suporte muito baixos e topologias incongruentes. Essas observações corroboram os resultados de um estudo filogenético em Cucurbitaceae, no qual foi revelado que a maioria das regiões plastidiais são classificadas como não enganosas para diferentes épocas de diversificação da família, enquanto grande parte das sequências nucleares são consideradas enganosas para divergências antigas (Bellot et al., 2020).

A topologia da árvore consiste em quatro clados principais com altos valores de probabilidade posterior, correspondendo à cada uma das famílias analisadas (Figura 1). O *core* Cucurbitales também constituiu um clado suportado ($pp = 1.00$). Além disso, foi observado alto suporte estatístico para um subclado formado por Tetramelaceae+Datiscaceae+Begoniaceae ($pp = 1.00$), sendo Cucurbitaceae o seu grupo irmão ($pp = 1.00$). Por sua vez, Datiscaceae aparece como irmã de Begoniaceae, com apoio estatístico ($pp = 0,98$). De acordo com nossos dados, foi possível inferir a seguinte relação para as quatro famílias: (Cucurbitaceae (Tetramelaceae (Datiscaceae; Begoniaceae))).

Estudos filogenéticos anteriores da ordem Cucurbitales, baseados numa combinação de regiões plastidiais, mitocondriais e nucleares mostram hipóteses de relacionamentos incertos entre as 4 famílias (Zhang *et al.* 2006; Schaefer & Renner 2011; Renner & Schaefer 2016). Uma abordagem de máxima parcimônia inferida por nove regiões gênicas associadas a caracteres morfológicos identificaram Cucurbitaceae como irmã de um subclado formado por Begoniaceae+Datiscaceae+Tetramelaceae (Zhang *et al.* 2006). Posteriormente, uma árvore de máxima verossimilhança obtida de 14 marcadores, sugere outro subclado maior – contendo Begoniaceae+Datiscaceae+Tetramelaceae+Coriariaceae+Corynocarpaceae – como o grupo irmão de Cucurbitaceae, porém, sem suporte estatístico (Schaefer & Renner 2011). Além disso, topologias ambíguas foram observadas, com Begoniaceae sendo irmã de Tetramelaceae; ou Begoniaceae como irmã de Datiscaceae. Todavia, os valores de bootstraps eram baixos ou moderados (Zhang *et al.* 2006; Schaefer *et al.* 2009; Schaefer & Renner 2011). Nosso estudo

sustenta a hipótese de que Datisceae e Begoniaceae estão mais intimamente relacionadas, corroborando estudos comparativos de morfologia floral e anatomia do xilema entre as referidas famílias (Carlquist 1985; Matthews & Endress, 2004).

CONCLUSÃO

Obtivemos uma topologia bem apoiada para as famílias centrais de Cucurbitales, fornecendo uma maior resolução filogenética para o grupo. Os dados mostram a provável relação para o *core*: (C (T (D; B))), indicando que provavelmente Cucurbitaceae precedeu a diversificação das demais famílias. Dentre as três restantes, Tetramelaceae foi a primeira família a divergir; e Datisceae é suportada como irmã de Begoniaceae.

REFERÊNCIAS

- APG (Angiosperm Phylogeny Group) IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal Linnean Society* 181: 1-20 doi: <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>.
- Bellot S, Mitchell TC, Schaefer H. 2020. Phylogenetic informativeness analyses to clarify past diversification processes in Cucurbitaceae. *Scientific Reports* 10 (488): 1-13 doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57249-2>.
- Carlquist S. 1985. Wood Anatomy of Begoniaceae, with comments on raylessness, paedomorphosis, relationships, vessel diameter, and ecology. *Torrey Botanical Society* 112 (1): 59-69 doi: 10.2307 / 2996105.
- Hugues M, Rubite RR, Blanc P, Chung K, Peng C. 2015. The miocene to pleistocene colonization of the philippine archipelago by Begonia sect. Baryandra (Begoniaceae). *American Journal of Botany* 102 (5): 1-12 doi:10.3732/ajb.1400428.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35 (6): 1547-1549 doi:10.1093/molbev/msy096.
- Maddison DR, Maddison WP. 2018. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Versão 3.01. <http://mesquiteproject.org>. 06 Julho 2020.
- Matthews ML, Endress PK. 2004. Comparative floral structure and systematics in Cucurbitales (Corynocarpaceae, Coriariaceae, Tetramelaceae, Datisceae, Begoniaceae, Cucurbitaceae, Anisophylleaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 129-185 doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2003.00281.x>.

Promoção



Realização



Apoio



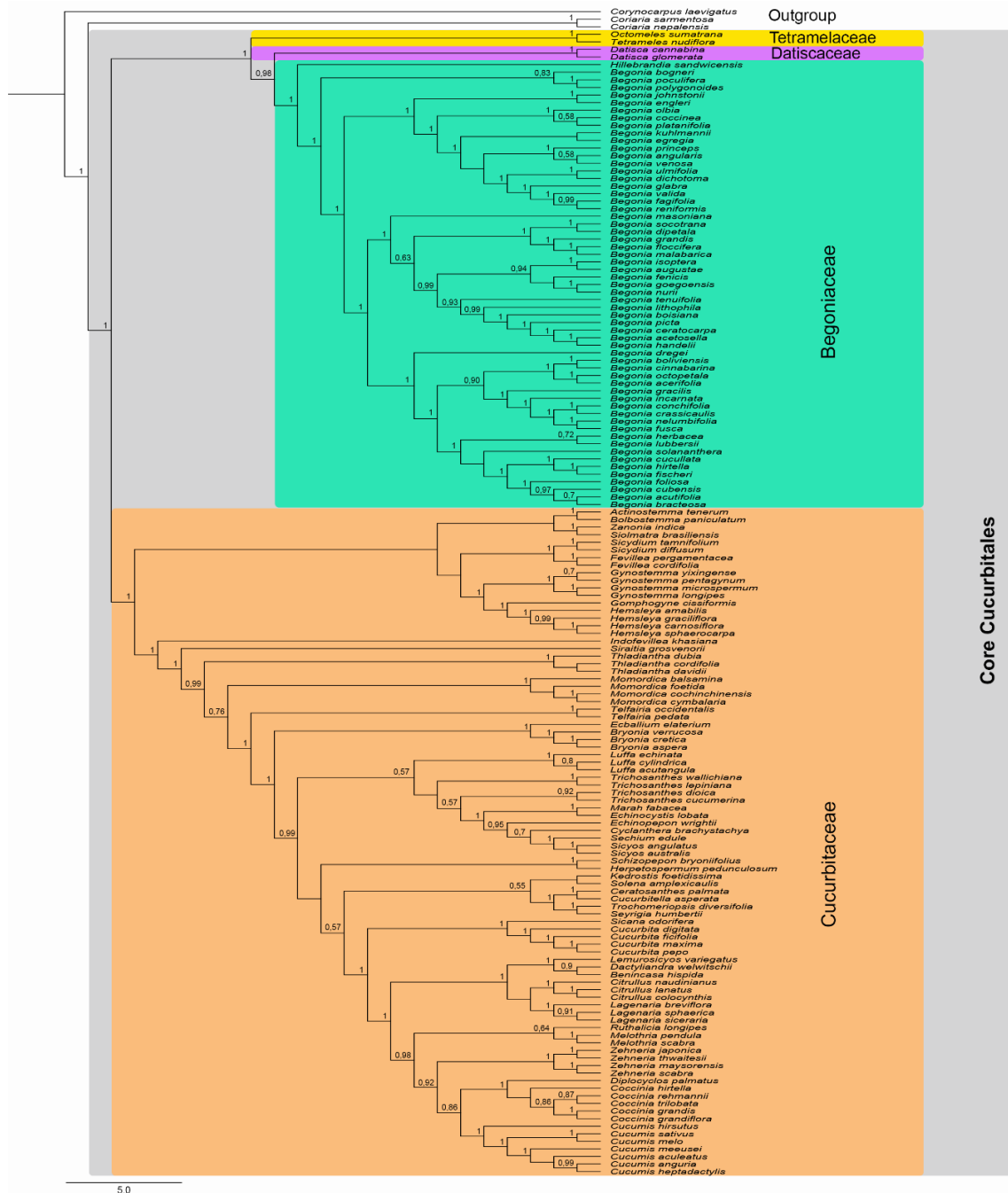


Figura 1: Árvore Bayesiana do core Cucurbitales inferida através de uma combinação de oito marcadores plastidiais. Os valores de probabilidades posteriores (pp) encontram-se próximos aos nós. Em Cinza: o clado core Cucurbitales; Laranja: Cucurbitaceae; Verde: Begoniaceae; Roxo: Datisceae; Amarelo: Tetramelaceae.

- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans. <http://www.phylo.org/index.php/>. 11 Julho 2020.
- Neale S, Goodall-Copestake W, Kidner CA. 2006. The evolution of diversity in Begonia. In Silva JAT. (ed.) Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues. Edinburgh, Global Science Books. p. 606-611.
- Posada D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. Molecular biology and Evolution 25 (7): 1253-1256.
- Rambaut A. 2009. FigTree v1. 3.1. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>. 15 Julho 2020.
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67 (5): 901-904 doi: 10.1093/sysbio/syy032.
- Renner SS, Schaefer H. 2016. Phylogeny and evolution of the Cucurbitaceae. In: Grumet R, Katzir N, Garcia-Mas J. (eds.) Plant Genetics and Genomics: Crops and Models. Switzerland, Springer International. p. 13-23.
- Schaefer H, Heibl C, Renner SS. 2009. Gourds afloat: a dated phylogeny reveals an Asian origin of the gourd family (Cucurbitaceae) and numerous overseas dispersal events. Proceedings of the Royal Society 276: 843-851 doi:10.1098/rspb.2008.1447.
- Schaefer H, Renner SS. 2011. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). Taxon 60 (1): 122-138.
- Zhang L, Simmons MP, Kocyan A, Renner SS. 2006. Phylogeny of the Cucurbitales based on DNA sequences of nine loci from three genomes: Implications for morphological and sexual system evolution. Molecular Phylogenetics and Evolution 39: 305-322 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.10.002>. doi:10.1093/aobpla/plu013.

Promoção



Realização



Apoio

