

**Filogenia molecular do gênero *Minaria* T.U.P. Konno & Rapini T.U.P. Konno & Rapini
(Asclepiadoideae, Apocynaceae)**

Patricia Luz Ribeiro¹; Uíara Catharina Soares e Silva; Alessandro Rapini e Cassio van den Berg

Palavras-chave: Diversificação recente, endemismo, ITS, *Metastelmatinae*, sistemática filogenética.

INTRODUÇÃO

O gênero *Minaria* T.U.P. Konno & Rapini pertence à subtribo *Metastelmatinae* Endl. ex Meisn. e compreende 19 espécies, que se distribuídas principalmente na Cadeia do Espinhaço, sendo a porção mineira desta formação o seu centro de diversidade e endemismo do gênero. É O monofiletismo do grupo é altamente sustentado por dados moleculares de plastídio, tendo divergido no início da evolução da subtribo (Rapini *et al.* 2003, 2006; Liede-Schumann *et al.* 2005). O gênero é facilmente reconhecido pelo hábito subarborescente com folhas diminutas, mas apresenta ampla variação da morfologia floral (Konno *et al.* 2006).

Estudos de datação molecular revelaram que *Metastelmatinae* se tornou diverso-diversa há apenas 12 Ma, com um evento de diversificação secundária em *Minaria* há 4,7 Ma (Rapini *et al.* 2007). A diversificação relativamente rápida e recente em *Metastelmatinae* parece ter sido a principal responsável por uma assincronia entre a evolução morfológica e aquela percebida através de marcadores moleculares descompassado entre a grande variabilidade morfológica observada nos representantes da subtribo e a baixa variabilidade encontrada nos diversos marcadores plastidiais até então testados. Soma-se a isso a presença de polimorfismos entre as cópias paralogas de marcadores nucleares e o grande número de homoplasias morfológicas característico de *Asclepiadoideae* e entendemos a dificuldade para se estabelecermos os relacionamentos filogenéticos suficientemente confiáveis para uma delimitação precisa de seus gêneros.

Buscando entender as relações internas em *Minaria* e reavaliar a sua circunscrição foi utilizada a região ITS do genoma nuclear.

MATERIAL E MÉTODOS

O DNA de cada amostra foi extraído de folhas desidratadas conforme protocolo descrito por Doyle & Doyle (1987). A amplificação do fragmento foi realizada segundo adaptações do protocolo de Thiv & Meve (2007). O seqüenciamento foi realizado com seqüenciador automático usando DyeEnamic ET® Dye Terminator Kit (Amersham-Biosciences). As seqüências foram editadas no programa Staden Package e alinhadas no BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall 1999). Foram utilizados 39 táxons correspondente a 37 espécies. *Blepharodon lineare* (Decne.) Decne., representante da linhagem que divergiu na raiz de *Metastelmatinae* (Rapini *et al.* 2006), foi utilizado como grupo externo na polarização da árvore. *Blepharodon lineare* (Decne.) Decne. foi utilizado como grupo externo (veja Rapini *et al.* 2006 para justificativa). As análises foram realizadas através de máxima parcimônia (PAUP - Swofford 2000²) e inferência bayesiana (MrModeltest Nylander 2004; MrBayes Huelsenbeck & Ronquist 2001; Ronquist & Huelsenbeck 2003). e A a sustentação dos clados para parcimônia foi avaliada através de *bootstrap* (BS) no PAUP e para análise bayesiana, pela probabilidade posterior (PP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A matriz de ITS resultou em 1.022 caracteres (119 excluídos), sendo 100 informativos para parcimônia.

Seis espécies apresentaram polimorfismo no ITS. Seqüenciando Seqüenciando indivíduos

¹ Departamento de Ciências Biológicas, Pós-graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana. Avenida Transnordestina s/n, bairro Novo Horizonte, Feira de Santana – BA, CEP 44.036-900. Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Formatado: Fonte: Não Negrito

Formatado: Sem sublinhado, Sobrescrito

Formatado: Sem sublinhado

Formatado: Fonte: Não Negrito

Formatado: Fonte: Não Negrito

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Sem sublinhado

de diferentes populações foi possível ~~resolver~~ ~~minimizar este esta problema~~ dificuldade, obtendo seqüências claras para ~~em~~ *Minaria* *M. refractifolia* (K. Schum.) T.U.P. Konno & Rapini e *M. magisteriana* (Rapini) T.U.P. Konno & Rapini. Quatro delas (*M. hemipogonoides* (E. Fourn.) T.U.P. Konno & Rapini, *M. monocoronata* (Rapini) T.U.P. Konno & Rapini, *M. polygaloides* (Silveira) T.U.P. Konno & Rapini e *M. semirii* (Fontella) T.U.P. Konno & Rapini), ~~no entanto, serão~~ exigirão necessárias técnicas de clonagens para obter ~~distinção~~ entre as cópias homólogas.

O núcleo de *Ditassa*, formado por *D. auriflora*, *D. banksii*, *D. blanchetii*, *D. burchellii*, *D. crassifolia* e *D. fasciculata* mostrou-se consistente em todas as árvores (PP 83% e BS 74%) com dados de ITS.

O gênero *Minaria* se mantém monofilético ~~com dados de ITS~~ porém com baixa sustentação (BS 76%; Fig.1 e PP 60%). A proximidade de *Barjonia harleyi* Fontella & Marquete, *Hemipogon harleyi* (Fontella) Goyder e *Minaria* revelada através de marcadores plastidiais (Soares e Silva *et al.* dados não publicados) também é sinalizada com este marcador. No entanto, outras espécies de *Barjonia* aparecem mais relacionadas com *Minaria* do que com as demais Metastelmatinae (BS=57%), contradizendo resultados obtidos com regiões plastidiais. As espécies de *Barjonia* são subar busto de A análise com dados plastidiais (dados não mostrados aqui) revelou que *Hemipogon harleyi* e *Barjonia harleyi* formam um clado inserido em *Minaria* e que *M. polygaloides* desponta como grupo irmão de *Minaria s.l.*, porém, não apresenta boa resolução.

Com dados de ITS a resolução, ainda que pouco sustentada, nos permite inferir alguns grupos que refletem a morfologia. Próximo ao núcleo das *Minarias* estão posicionadas algumas espécies de *Barjonia*, cujo hábito ereto ocorrendo em ambientes abertos e algumas delas também apresentam folhas reduzidas, como *B. glaziouvi* Marquete e *B. grazielaegraziela* Fontella & Marquete, muito se assemelha à *Minaria*, porém existem diferenças vegetativas marcantes em *Barjonia*.

No núcleo de *Minaria*, foram formados está dividida em dois clados principais: um

composto por *M. graziela* (Fontella & Marquete) T.U.P. Konno & Rapini e *M. magisteriana* (Rapini) T.U.P. Konno & Rapini (BS 72% PP 90% e BS 72%), caracterizado por sementes sem coma (clado A), e outro contendo o restante das espécies (BS 78%; clado B). Dentre as espécies com sementes comosas, *M. ditassoides* (Silveira) T.U.P. Konno & Rapini e *M. lourteigiae* (Fontella) T.U.P. Konno & Rapini aparecem sem uma posição resolvida em relação a dois clados, um composto pelo complexo *M. cordata* (Turcz.) T.U.P. Konno & Rapini (BS 60%; clado B1) e outro bastante diverso e pouco resolvido (BS=96%; clado B2), incluindo dentre outras espécies *M. abortiva* (E. Fourn. Silveira) Rapini, considerada variedade ou mesmo sinônimo de *M. cordata* (Konno 2005).

A posição de *M. polygaloides* e a relação de *Hemipogon harleyi* com *Minaria* não haviam sido até aqui cogitadas. Além disso, a proximidade entre *M. refractifolia* (K. Schum.) T.U.P. Konno & Rapini e o grupo de *M. acerosa* (Mart.) T.U.P. Konno & Rapini sugere que a semelhança entre o hábito ~~dessa dela~~ e o das demais espécies rupícolas seja convergente e que a ausência de coma seja uma sinapomorfia de um pequeno clado composto apenas por *M. hemipogonoides* (E. Fourn.) T.U.P. Konno & Rapini, *M. graziela*, *M. magisteriana*, *M. monocoronata* (Rapini) T.U.P. Konno & Rapini e *M. semirii* (Fontella) T.U.P. Konno & Rapini, todas elas rupícolas e endêmicas de pequenas áreas na Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais.

A morfologia floral de *Minaria* e aspectos como odor, coloração das flores, floração no período das chuvas e observações em campo nos permite dizer que a polinização pode ser realizada por moscas. Espécies de *Minaria* sem coma nas sementes, além de ter um fluxo gênico por pólen reduzido devido à mobilidade do polinizador, tem uma capacidade de dispersão reduzida. O que, somado a fatores como especificidade de habitat, reflete no microendemismo destas espécies (Katinas & Crisei 2008), tornando as mais suscetíveis à extinção, uma vez que ocorrem em áreas de turismo e mineração.

AGRADECIMENTOS

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

À FAPESB pela bolsa doutorado (~~BOLE 1196/2007~~) e ~~auxílio apoio ao projeto de~~ pesquisa Diversidade e Filogenia de Apocynaceae (N xxx). Ao IBAMA, em especial ao PARNA Cipó e ao IEF-MG, pelo apoio às coletas nas unidades de conservação. A Sigrid Liede-Schumann pela disponibilização de algumas seqüências, especialmente de *D. banksii* Schult.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L.. 1987. A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America*, 19: 11-15.
- HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. ~~Nucleic Acids Symposium Series~~, 41: 95-98.
- ~~HUELSENBECK, J.P. & RONQUIST, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754-755.~~
- ~~KATINAS, L. & CRISCI, J. 2008. Reconstruction the biogeographical history of two plant genera with different dispersion capabilities. *Journal of Biogeography*, 1-11.~~
- KONNO, T.U.P. 2005. *Ditassa R.Br. no Brasil (Asclepiadoideae, Apocynaceae) e revisão taxonômica de Minaria T.U.P.Konno & Rapini*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- KONNO, T.U.P.; RAPINI, A.; GOYDER, D.J. & CHASE, M.W. 2006. The new genus *Minaria* (Asclepiadoideae, Apocynaceae). *Taxon*, 55: 421-430.
- LIEDE-SCHUMANN, S.; RAPINI, A.; GOYDER, D.J. & CHASE, M.W. 2005. Phylogenetics of the New World subtribes of Asclepiadeae (Apocynaceae - Asclepiadoideae): Metastelmatinae, Oxypetalinae, and Gonolobinae. *Systematic Botany*, 30: 183-194.
- ~~NYLANDER, J.A.A. 2004. MrModeltest 2.2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre. Uppsala: Uppsala University.~~
- RAPINI, A.; CHASE, M.W.; GOYDER, D.J. & GRIFFITHS, J. 2003. Asclepiadeae classification: evaluating the phylogenetic relationships of New World

Asclepiadoideae (Apocynaceae). *Taxon*, 52: 33-50.

RAPINI, A.; CHASE, M.W. & KONNO, T.U.P. 2006. Phylogenetics of South American Asclepiadeae (Apocynaceae). *Taxon*, 55: 119-124.

RAPINI, A.; BERG, C. & LIEDE-SCHUMANN 2007. Diversification of Asclepiadoideae (Apocynaceae) in the New World. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94: 407-422.

~~RONQUIST, F. & HUELSENBECK, J.P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.~~

~~SWOFFORD, D.L. 2000. PAUP* 4.1: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Sunderland: Sinauer Associates.~~

~~THIV, M. & MEVE, U. 2007. A phylogenetic study of *Echidnopsis* Hook. f. (Apocynaceae - Asclepiadoideae) taxonomic implications and the colonization of the Socotran archipelago. *Plant Systematics and Evolution*, 265: 71-86.~~

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Recuo: À esquerda: 0 cm, Deslocamento: 0,95 cm, Controle de linhas órfãs/viúvas

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

[AR1] Comentário: pos extenso

Formatado: Não Realce

Formatado: Não Realce

Formatado: Não Realce

Formatado: Realce

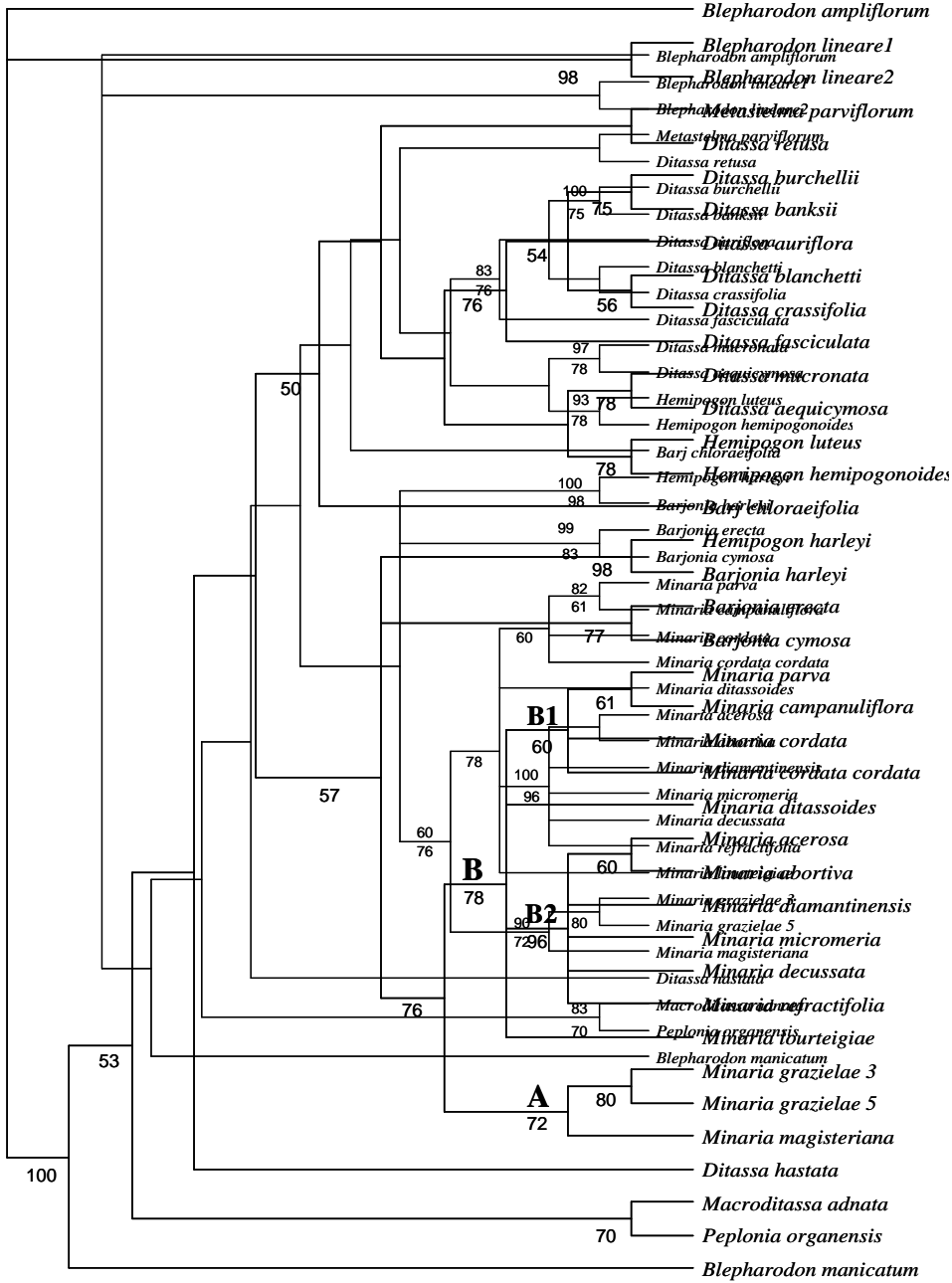
Formatado: Realce

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Fonte: Itálico, Realce



Formatado: Recuo: Primeira linha:
1,25 cm

Figura. 1. Consenso estrito de 36 árvores ($L= 291$, $CI= 0,7663$ e $RI= 0,8419$) obtidas através da análise de máxima ~~parcimonia~~parcimônia com ITS. Os ~~números~~números acima dos ramos indicam a ~~probabilidade posterior (%) obtidas na análise bayesiana e aqueles~~probabilidade posterior (%) obtidas na análise bayesiana e aqueles abaixo dos ramos indicam valores de *bootstrap* ~~(%) e as letras acima dos ramos, clados discutidos no texto.~~