

# FILOGENIA DOS *ANTHURIUM* REPTANTES DA SEÇÃO *UROSPADIX* (ARACEAE)

**Maryelle Vanilla de Abreu Cerqueira<sup>1</sup>; Karena Mendes Pimenta<sup>2</sup> e Cassio van den Berg<sup>3</sup>**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Agronomia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [maryellevanilla@gmail.com](mailto:maryellevanilla@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [vcassio@gmail.com](mailto:vcassio@gmail.com)
3. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Botânica, Co-orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [karenamendes@hotmail.com](mailto:karenamendes@hotmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** *Araceae*, *Anthurium*, Sequenciamento de DNA

## INTRODUÇÃO

A família Araceae é composta por 125 gêneros e 3525 espécies (Boyce & Croat, 2016). *Anthurium* Schott é o maior gênero de Araceae com cerca de 1000 espécies neotropicais (Boyce & Croat, 2015).

A filogenia realizada por Carlsen & Croat (2013) utilizou representantes de todas as seções do gênero *Anthurium*, com dados de sequências de cloroplasto (*trnS-trnG*, *trnH-psbA*, *trnC-ycf6*) e uma região nuclear (primeiro íntron do gene CHS). Nessa análise surgiu um clado que já havia chamado atenção de pesquisadores em outra filogenia específica, a da seção *Urospadix* realizada por Temponi (2006); este clado inclui as espécies *A. bellum* Schott, *A. longipes* N.E.Br., *A. radicans* K.Koch & Haage, *A. malyi* Wied-Neuw e *A. bromelicola* Mayo & L.P.Félix.

Todas as espécies do clado em questão possuem problemas de delimitação específica constatadas pela dificuldade de identificação com base em morfologia nos herbários. No estudo filogenético da Seção *Urospadix* de Temponi (2006) foi evidenciado um grupo menor com cinco sinapomorfias. Dentre elas o caule reptante é o de mais fácil visualização. Entretanto, outra espécie foi incluída nesse grupo, *Anthurium bromelicola*, apesar de apresentar caule tipo escandente. Dentre as demais espécies de *Urospadix* utilizadas nas análises, outras três possuem o caule reptante, porém não se agruparam nesse clado, que são *A. loefgrenii* Engl., *A. mareense* K.Krause e *A. maricense* Nadruz & Mayo. Outra espécie, *A. raimundi* também portadoras de caule reptante, foram publicadas posteriormente, e por isso não constam nessas análises filogenéticas (Temponi 2006; Carlsen & Croat 2013).

Análises moleculares mais criteriosas que envolvam todas as espécies reptantes de *Anthurium* da Seção *Urospadix* podem gerar informações valiosas quanto à taxonomia, ecologia, genética e evolução do grupo em questão. Assim, os estudos aqui desenvolvidos visaram gerar dados para o esclarecimento das relações evolutivas entre as espécies de *Anthurium* reptantes seção *Urospadix*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos foram conduzidos no Laboratório de Sistemática Molecular de Plantas (LAMOL), da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Foram utilizadas as amostras de *Anthurium*: *A. acutum* N.E.Br., *A. bellum*, *A. bromelicola* subsp. *bahiense* Mayo & L.P.Felix, e *A. bromelicola* subsp. *bromelicola* Mayo & L.P.Felix, *A. loefgrenii*, *A. longipes*, *A. malyi*, *A. mareense* K. Krause, *A. maricense* Nadruz & Mayo, *A. radicans* e *A. raimundii* Mayo, Haigh & Nadruz.

**Coleta, extração e armazenamento de DNAs totais:** As amostras foram coletadas em Sílica e extraídas segundo uma modificação do protocolo de Doyle & Doyle (1987). Foi realizado um teste de eficiência de obtenção de DNA total, no qual dois tipos de extração foram avaliados. O primeiro protocolo foi com moagem manual no cadinho; o segundo utilizando moinho com esferas metálicas (Qiagen).

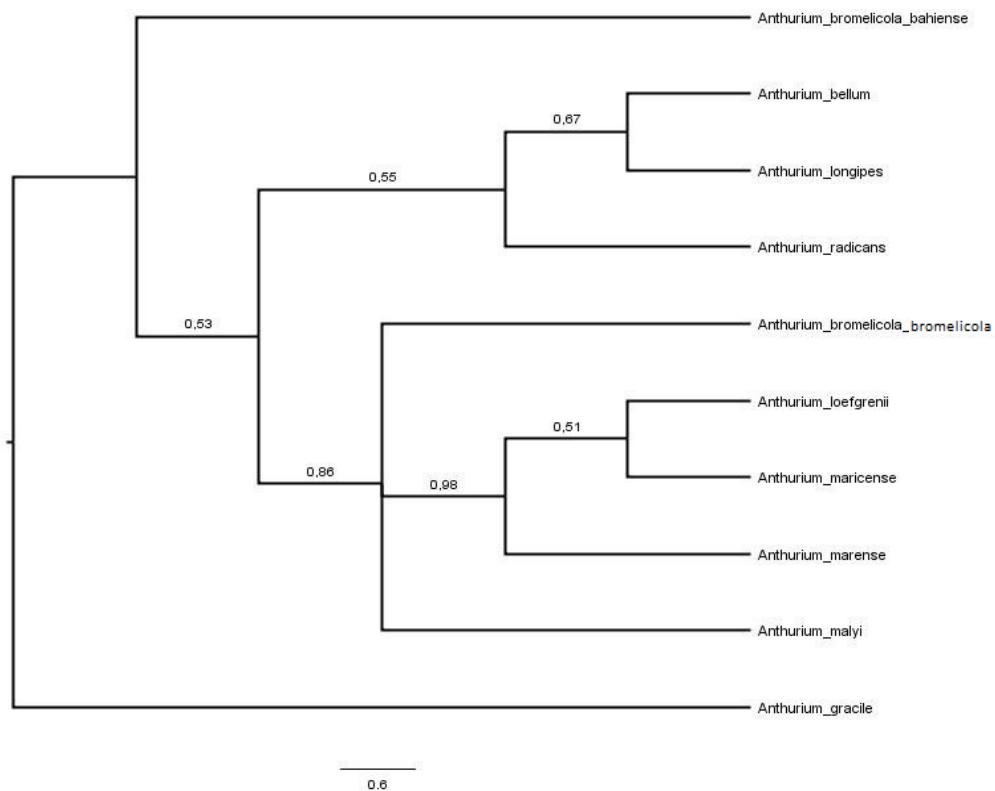
A conservação do DNA extraído foi feita a -20 °C.

**Protocolos de amplificação e sequenciamento e preparo das sequências para filogenia e filogeografia.** Para amplificação de regiões nucleares e plastidiais utilizaram-se os mesmos *primers* de Carlsen & Croat (2013) (*trnS-trnG*, *trnH-psbA* e CHS), seguindo como base os protocolos já otimizamos em outros trabalhos (van den Berg *et al.*, 2009). Foram realizados testes de temperatura com diferentes concentrações de DNA e efetuada limpeza das amostras que apresentaram bandas que foram posteriormente sequenciadas em um sequenciador automático ABI3130XL.

**Análises filogenéticas.** Uma análise Bayesiana com o programa MRBAYES 3.2.6 foi realizada utilizando uma matriz combinada com as sequências obtidas das três regiões de DNA. Foram adicionadas na matriz como grupo externo sequências de *Anthurium gracile* (Rudge) Lindl. obtidas do Genbank.

## RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

Foram extraídas 22 amostras de DNA de 11 espécies do gênero *Anthurium*, e a partir destas realizou-se 41 PCRs (*Polymerase Chain Reaction*), para amplificação de três regiões: *trnS-trnG*, *trnH-psbA* e CHS. A qualidade das amostras foi conferida através de eletroforese em géis de agarose. As amostras diluídas a 20× apresentaram melhores resultados, sendo esta concentração adotada como padrão para todas as regiões. As amostras extraídas manualmente apresentaram melhor quantidade de DNA total do que as feitas com o auxílio do moinho. Das amostras do estudo, foi possível obter sequências satisfatórias de nove, que foram utilizadas para a análise combinada das sequências da árvore da Figura 1. Não foi possível obter sequências de *A. acutum*, *A. queirozianum* e *A. raimundii*.



**Figura 1:** Árvore Bayesiana de espécies selecionadas de *Anthurium* gerada a partir de sequências das regiões de plastídeo *psbA-trnH* e *trnS-trnG* e nuclear CHS. Os valores correspondem às probabilidades posteriores de cada clado, a barra inferior corresponde ao número de mutações esperadas.

Na árvore obtida detectamos a presença de três grupos. O primeiro corresponde apenas a *A. bromelicola* subsp. *bahiense* como irmão do restante (PP 0.53), o segundo a *A. bellum*+*A. longipes*+*A. radicans* (PP 0.55), e o terceiro *A. bromelicola* subsp. *bromelicola*+*A. loefgrenii*+*A. maricense*+*A. marense*+*A. malyi* (PP 0.86). Com base

nos dados gerados, foi possível constatar que as subespécies *A. bromelicola* subsp. *bahiense* Mayo & L.P.Felix e *A. bromelicola* subsp. *bromelicola* Mayo & L.P.Felix ficaram posicionadas em grupos diferentes da árvore, demonstrando que podem não pertencer à mesma espécie. Entretanto os suportes para o primeiro e segundo grupos mencionados foram baixos, indicando a necessidade de estudos morfológicos e populacionais para verificar esse padrão, bem como mais dados de outras regiões de DNA.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)**

A utilização de sequências de apenas três regiões de plastídeo e núcleo geraram uma árvore, porém os suportes para os diferentes clados foram inerentemente baixos, indicando uma quantidade de variação ainda insuficiente para a reconstrução filogenética das amostras incluídas no estudo. Isso indica a necessidade de incluir mais regiões e também fazer estudos complementares para avaliar a circunscrição de *A. bromelicola*.

### **REFERÊNCIAS**

- Boyce, P. C. & Croat, T. B. (2015). The Überlist of Araceae, Totals for Published and Estimated Number of Species in Aroid Genera. Disponível em: <<http://www.aroid.org/genera/140601uberlist.pdf>>. Acesso em: 15 Jul 2018.
- Boyce, P.C., Croat T. (2016). The Überlist of Araceae – totals for published and 19 estimated number of species in Aroid genera. Disponível em: <<http://www.aroid.org/genera/160330uberlist.pdf>>. Acesso em: 15 Jul 2018.
- Carlsen, M.M. & Croat, T.B. (2013). A molecular phylogeny of the species-rich neotropical genus *Anthurium* (Araceae) based on combined chloroplast and nuclear DNA. *Systematic Botany* 38: 576-588.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Temponi, L.G. (2006). Sistemática de *Anthurium* sect. *Urospadis* (Araceae). Tese de Doutorado - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- van den Berg, C. Higgins, W. E., Dressler, R. L., Whitten, W. M., Soto-Arenas, M. A., & Chase, M. W. (2009). A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastidDNA sequences. *Annals of Botany* 104: 417–430.