

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

PROCESSO DE ADMISSÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS (PPGCA)
Mestrado e Doutorado em Ciências Ambientais

PROPOSTA DE PESQUISA

DADOS DO PROPONENTE

Autor: Daniel Alves Spiazzi

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Alves Elias

TÍTULO DO PROJETO: Delimitação do complexo *Sinningia reitzii* (Hoehne) L.E.Skog: uma abordagem taxonomica e evolutiva

DESCRIÇÃO DA PROPOSTA DO PROJETO DE PESQUISA

CARACTERIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

Complexos de espécies são grupos de organismos cujos limites entre espécies não estão claramente definidos, tornando incerta a delimitação e o número real de espécies. Esse fenômeno é frequentemente associado a fatores como variação morfológica críptica, amostragem limitada, ampla distribuição geográfica, introgressão e polimorfismo ancestral entre populações e espécies de divergência recente (GRUBE & KROKEN, 2000). Identificar e estabelecer fronteiras entre espécies em complexos de espécies tem se revelado um grande desafio na taxonomia moderna, entretanto grandes avanços foram feitos com o desenvolvimento das técnicas de sequenciamento de nova geração de DNA e o desenvolvimento de análises filogenéticas e filogeográficas com base em dados moleculares robustos (GRUBE & KROKEN, 2000; CARSTENS *et al.*, 2012; CARSTENS *et al.*, 2013).

A família Gesneriaceae, composta por aproximadamente 160 gêneros e 3.200 espécies, inclui ervas perenes, arbustos e pequenas árvores, destacando-se por sua diversidade morfológica e adaptação a uma ampla variedade de habitats, além de apresentar coevolução com interações especializadas entre plantas e animais (WIEHLER, 1983; WEBER, 2004; WEBER; SKOG, 2007 em diante). Foi identificado um forte e positivo efeito da síndrome de polinização por beija-flores no processo de diversificação de espécies Neotropicais de Gesneriaceae, indicando co-evolução de muitos táxons da família com os polinizadores

(SERRANO-SERRANO *et al.*, 2017). Nas regiões neotropicais, Gesneriaceae exibe uma distribuição centrada principalmente nos Andes, com maior diversidade no Norte dos Andes e América Central, além de centros secundários nas Ilhas do Caribe (SKOG, 1976; MARTEN-RODRIGUEZ *et al.*, 2010) e na Mata Atlântica brasileira (CHAUTEMS *et al.*, 2005; PERRET, CHAUTEMS & SPICHIGER, 2006). A extensa diversificação morfológica, aliada a altos níveis de convergência evolutiva, tornou complexa a avaliação das relações dentro de Gesneriaceae, gerando confusão na taxonomia inicial desta família (CLARK *et al.*, 2012).

O gênero *Sinningia* Nees pertence à subtribo Ligeriinae (Gesnerieae), que também inclui os gêneros *Vanhouttea* Lem. e *Paliavana* Vell. ex Vand. (WEBER *et al.*, 2013). Com 78 espécies registradas, *Sinningia* é o maior gênero de *Gesneriaceae* no Brasil (ARAÚJO *et al.*, 2024; CHAUTEMS *et al.*, 2022). Ele se diferencia por possuir caule aéreo anual produzido depois de um período de dormência ou ausente ou raramente tornando-se parcialmente ou totalmente sublenhoso ou suculento perene (Araujo *et al.*, 2024). *Sinningia* originou-se na Mata Atlântica, no sudeste do Brasil, uma região que ainda abriga a maior diversidade de *Gesneriaceae* do país, estendendo-se até a América Central (CHAUTEMS 1988; PERRET *et al.*, 2006, 2007, 2013).

A reconstrução biogeográfica da subtribo Ligeriinae sugere que as florestas tropicais da Mata Atlântica representam a área ancestral do grupo, com cerca de 57% dos eventos de especiação ocorrendo em uma escala geográfica restrita, especialmente no sudeste do Brasil (PERRET *et al.*, 2006).

Os estados brasileiros com maior diversidade de espécies de *Sinningia* estão na Região Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro), sendo o Rio de Janeiro o mais biodiverso, com 29 espécies (ARAÚJO *et al.*, 2022). Na Região Sul, os estados do Paraná e Santa Catarina possuem o mesmo número de espécies (18 spp.), e o Rio Grande do Sul tem 12 espécies (FERREIRA *et al.*, 2015; HINOSHITA *et al.*, 2024).

Considerando as novas espécies descritas na última década (FERREIRA *et al.*, 2015; CHAUTEMS *et al.*, 2019; CHAUTEMS *et al.*, 2022), juntamente com as metodologias recentes para resolver problemas críticos na determinação de espécies, além dos táxons classificados apenas em nível de gênero, ainda há muitas espécies que necessitam de uma circunscrição mais precisa.

PROBLEMA E PERGUNTA DE PESQUISA

Durante os estudos da família Gesneriaceae para compor a Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, Chautems (2003), ao analisar as espécies de *Sinningia* Nees, identificou um material proveniente de Iporanga (A.Chautems & M.Peixoto 372) com características morfológicas similares a *Sinningia reitzii*, possuindo inflorescência composta, com posição axilar nas folhas, cálice de formato linear oblongo, com indumentos pubescentes, corola de formato tubuloso, tubo da corola de coloração vermelha, lobos da corola subguais, de 3,0 cm a 5,0 cm de comprimento, indumentos na face externa pubescentes, nectários com duas glândulas isoladas (ARAUJO *et al.*, 2024). No entanto, este material se destacava por apresentar no lugar de inflorescências em pseudo-rácemos, com cimas pedunculadas, produz 1-2 flores axilares, sem pedúnculo. As corolas são muito semelhantes no formato e no tamanho, mas foi observada uma variação na cor: *S. reitzii* típica apresenta corolas vermelhas e a *S. aff. reitzii* tem corolas mais rosadas que podem ser definidas como carmim ou magenta. Devido à falta de material adicional para descrevê-lo como um novo táxon, optou-se por tratá-lo como *S. aff. reitzii*.

Em 2022, durante o monitoramento ambiental da rodovia SC-370, na Serra do Corvo Branco, e coletas botânicas na Serra do Rio do Rastro, novos espécimes de *Sinningia* foram coletados nas escarpas dessas serras. Esses exemplares também apresentaram semelhanças com *S. reitzii*, porém, diferenciaram-se desta principalmente pelo indumento cobrindo toda a planta e pela corola de tonalidade carmim. Esses dados sugerem que estamos lidando com um complexo de espécies relacionadas a *S. reitzii*.

Apesar das semelhanças morfológicas, essas linhagens exibem distribuições geográficas disjuntas. *S. reitzii* ocorre nas serras do norte de Santa Catarina (Joinville, São Bento do Sul e Corupá), mas foi registrado um material semelhante no estado de São Paulo, perto de São Pedro (ESA 104619). *S. aff. reitzii* (A.Chautems & M.Peixoto 372) é registrada no sul de São Paulo e no Paraná, enquanto a nova *Sinningia* sp. é restrita às Serras do Corvo Branco e Rio do Rastro.

Além disso, análises químicas realizadas por Winiewski *et al.*, (2021) indicam uma diferenciação química entre as populações de *S. reitzii* de SC e *S. aff. reitzii* do PR. As populações de *S. aff. reitzii* produziram uma quantidade maior de naftoquinonas, enquanto duas naftoquinonas foram isoladas apenas de *S. reitzii* típica. Compostos com atividades anti-inflamatórias e citotóxicas, previamente descritos em *S. aff. reitzii*, não foram detectados em *S. reitzii* típica, o que reforça a distinção química entre as linhagens. As diferenciações químicas utilizadas para diferenciar as possíveis espécies, apresentam potencial para aplicações farmacológicas e ecológicas.

PERGUNTAS CIENTÍFICAS

1. **Quantas e quais espécies compõem o complexo relacionado a *Sinningia reitzii*?**
2. **Quais características morfológicas e moleculares podem ser usadas para delimitar taxonomicamente as linhagens dentro do complexo de *S. reitzii*?**
Quais fatores ecológicos, evolutivos e biogeográficos contribuíram para a especiação ou divergência das linhagens do complexo de *Sinningia reitzii*?
3. **Quais são as implicações taxonômicas e ecológicas da delimitação de novas linhagens para a conservação das espécies do complexo de *Sinningia reitzii* nas regiões de Santa Catarina e São Paulo?**

OBJETIVO GERAL

Investigar a delimitação taxonômica e os processos evolutivos entre as linhagens relacionadas a *Sinningia reitzii*, com o intuito de esclarecer se elas representam espécies distintas ou variações dentro de um mesmo táxon, e avaliar as implicações para sua conservação.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. **Delimitar taxonomicamente as linhagens relacionadas a *Sinningia reitzii*:**
Realizar análises morfológicas e moleculares para identificar quantas e quais espécies estão presentes no complexo *S. reitzii*.
2. **Avaliar a distribuição geográfica e ecológica das linhagens:**
Mapear as áreas de ocorrência das linhagens de *S. reitzii*, *S. aff. reitzii* e possíveis novas espécies, investigando padrões de distribuição disjunta e seus respectivos habitats.
3. **Identificar os processos evolutivos responsáveis pela diferenciação entre as linhagens:**
Analisar a história biogeográfica e os fatores ecológicos e evolutivos que contribuíram para a especiação ou divergência entre as populações.
4. **Avaliar as implicações de conservação das linhagens identificadas:**
Discutir o status de conservação das populações identificadas, especialmente aquelas com distribuição restrita, e propor estratégias para sua preservação.

ABORDAGEM METODOLÓGICA

Pesquisa Bibliográfica

As pesquisas serão realizadas em bases de dados científicas, focando em informações taxonômicas, ecológicas e fitogeográficas de *Sinningia reitzii* e táxons relacionados. Essa etapa incluirá artigos, monografias e revisões relevantes para identificar dados sobre distribuição e ecologia das espécies.

Consultas a Herbários

Amostras de herbários nacionais e internacionais serão consultadas, incluindo: BHCB, CEN, CGMS, CNMT, COR, EAFM, entre outros no Brasil, e B, BM, E, F, G, etc., no exterior. Esse levantamento garantirá uma amostragem ampla para análise comparativa.

Expedições a Campo

Com base no levantamento prévio de distribuição e ecologia, serão realizadas expedições nas regiões prioritárias identificadas. As amostras coletadas incluirão exsiccatas e materiais para análises moleculares (DNA em sílica gel) e serão depositadas no Herbário Pe. Dr. Raulino Reitz (CRI), da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

Análises Genômicas

Os genes serão alinhados e concatenados para análise filogenética usando MAFFT (KATO; STANDLEY, 2013), AMAS (BOROWIEC, 2016) e IQ-Tree (NGUYEN *et al.*, 2015) e RevBayes (HÖHNA *et al.*, 2016). Árvores de consenso serão geradas, aplicando análise coalescente com ASTRAL (ZHANG *et al.*, 2020). A calibração temporal será realizada usando a abordagem TreePL (SMITH; O'MEARA, 2012).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, A.O.; CHAUTEMS, A.; ROSSINI, J. *Sinningia in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB7879>>. Acesso em: 07 nov. 2024.
- BOROWIEC, MAREK L. **AMAS: a fast tool for alignment manipulation and computing of summary statistics**. PeerJ, [s. l.], v. 4, p. e1660, 2016.
- CARSTENS, B., LEMMON, A.R. & LEMMON, E.M. The Promises and Pitfalls of Next-Generation Sequencing Data in Phylogeography. **Systematic biology**, 61(5), pp.713–715. 2012.
- CARSTENS, B.C. *et al.* How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, 22(17), pp.4369–4383. 2013.
- CHAUTEMS, A. **Révision taxonomique et possibilités d'hybridations de *Nematanthus Schrader* (Gesneriaceae), genre endémique de la forêt côtière brésilienne**. Diss. Botanicae 112. Berlin, J. Cramer, 226p. 1988.

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

- CHAUTEMS, A. Taxonomic revision of *Sinningia* Nees: nomenclatural changes and new synonymies. **Candollea** 45: 381-388. 1990.
- CHAUTEMS A. & MATSUOKA C.Y.K. Gesneriaceae. In: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Giulietti AM & Melhem TS (eds.) **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo. Vol.3, pp. 75-103. 2003.
- CHAUTEMS, A, LOPES T.C.C, PEIXOTO M, ROSSINI J. Five new species of *Nematanthus* Schrad. (Gesneriaceae) from eastern Brazil and a revised key to the genus. **Selbyana** 25:210–224. 2005.
- CHAUTEMS, A., DUTRA, V. F., FONTANA, A. P., PEIXOTO, M., PERRET, M., & ROSSINI, J. Three new species of *Sinningia* (Gesneriaceae) endemic to Espírito Santo, Brazil. **Candollea**, 74(1), 33–42. <https://doi.org/10.15553/c2019v741a5>. 2019.
- CHAUTEMS, A. CARDOSO D.B.O.S. & PERRET M. Two new species of *Sinningia* (Gesneriaceae) endemic to Bahia, Brazil. **Candollea** 77: 137-144. 2022.
- CLARK, J.L, FUNKE MM, DUFFY AM, SMITH JF. Phylogeny of a Neotropical clade in the Gesneriaceae: more tales of convergent evolution. **International Journal of Plant Sciences** 173: 894–916. 2012.
- FERREIRA, G. E., WAECHTER, J. L., & CHAUTEMS, A. *Sinningia ramboi* (Gesneriaceae), a new species from south Brazil. **Systematic Botany**, 39(3), 975–979. 2014
- FERREIRA, G. E., CHAUTEMS, A., & WAECHTER, J. L. Taxonomy of *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, 29(3), 310–326. 2015
- GRUBE, M. & KROKEN, S. Molecular approaches and the concept of species and species complexes in lichenized fungi. **Mycological Research**, 104(11), pp.1284–1294. 2000.
- HÖHNA, SEBASTIAN et al. RevBayes: Bayesian Phylogenetic Inference Using Graphical Models and an Interactive Model-Specification Language. **Systematic Biology**, v. 65, n. 4, p. 726–736, 2016.
- JOHNSON, MATTHEW G et al. A Universal Probe Set for Targeted Sequencing of 353 Nuclear Genes from Any Flowering Plant Designed Using k-Medoids Clustering. **Systematic Biology**, v. 68, n. 4, p. 594–606, 2019.
- KATOH, KAZUTAKA; STANDLEY, Daron M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013.
- MARTEN-RODRIGUEZ, S. FENSTER C.B, AGNARSSON I, SKOG L.E, ZIMMER E.A. Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. **New Phytologist** 188: 403–417. 2010.

- MATZKE, NICHOLAS J. Model selection in historical biogeography reveals that founder-event speciation is a crucial process in island clades. **Systematic Biology**, v. 63, n. 6, p. 951–970, 2014.
- NGUYEN, LAM TUNG et al. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 268–274, 2015.
- OGUTCEN, EZGI et al. Phylogenomics of Gesneriaceae using targeted capture of nuclear genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 157, 2021.
- PERRET, M., A. CHAUTEMS, AND R. SPICHIGER. Dispersal-vicariance analyses in the tribe Sinningieae (Gesneriaceae): a clue to understanding biogeographical history of the Brazilian Atlantic forest. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 93: 340–358. 2006.
- PERRET, M. CHAUTEMS A. SPICHIGER R. Dispersal vicariance analyses in the tribe Sinningieae (Gesneriaceae): a clue to understanding biogeographical history of the Brazilian Atlantic forest. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 93: 340–358. 2006.
- PERRET, M., A. CHAUTEMS, R. SPICHIGER, T. G. BARRACLOUGH, AND V. SAVOLAINEN. The geographical pattern of speciation and floral diversification in the Neotropics: The tribe Sinningieae (Gesneriaceae) as a case study. **Evolution** 61: 1641–1660. 2007.
- PERRET, M., A. CHAUTEMS, A. O. ARAUJO, AND N. SALAMIN. Temporal and spatial origin of Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society** 171: 61–79. 2013.
- HINOSHITA, L. K. R., DE ARAÚJO, A. O., CHAUTEMS, A., & GOLDENBERG, R. Flora of *Sinningia* (Gesneriaceae) in the state of Paraná, Brazil. **Rodriguesia**, 75. 2024.
- SERRANO-SERRANO, M. L., ROLLAND, J., CLARK, J. L., SALAMIN, N., & PERRET, M. Hummingbird pollination and the diversification of angiosperms: An old and successful association in Gesneriaceae. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1852). 2017.
- SKOG, L.E. A study of the tribe Gesnerieae with a revision of *Gesneria* (Gesneriaceae: Gesnerioideae). **Smithsonian Contributions to Botany** 29: 1–182. 1976.
- SMITH, S. A.; O'MEARA, B. C. TreePL: Divergence time estimation using penalized likelihood for large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 28, n. 20, p. 2689–2690, 2012.
- VAN DAM, M. H.; MATZKE, N. J. Evaluating the influence of connectivity and distance on biogeographical patterns in the south-western deserts of North America. **Journal of Biogeography**. 43, n. 8, p. 1514–1532, 2016.
- ZHANG, C. ASTRAL-pro: Quartet-based species-tree inference despite paralogy. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 11, p. 3292–3307, 2020.

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

- WIEHLER, H. A synopsis of the Neotropical Gesneriaceae. **Selbyana** 6:1– 219. 1983.
- WEBER, A. Gesneriaceae. In: Kubitzki K, ed. **The families and genera of vascular plants**, Vol. 7. Berlin: Springer, 63–158. 2004.
- WEBER, A. SKOG L.E. (onwards). **The genera of Gesneriaceae. Basic information with illustration of selected species**. Ed. 2. Available at: <http://www.genera-gesneriaceae.at/>
- WEBER, A., CLARK, J. L., MÖLLER, M. A New Formal Classification Of Gesneriaceae. **Selbyana** 31(2) 68-94. 2013.
- WINIEWSKI, V., SILVA, A. S., ALVAREZ, K. D. C., DE SÁ, E. L., SALVADOR, M. J., ÉLID, M., & STEFANELLO, A. Antioxidant naphthoquinones of *Sinningia reitzii* from Santa Catarina state, Brazil. **Quimica Nova**, 44(3), 284–287.