

# Análise Filogenética

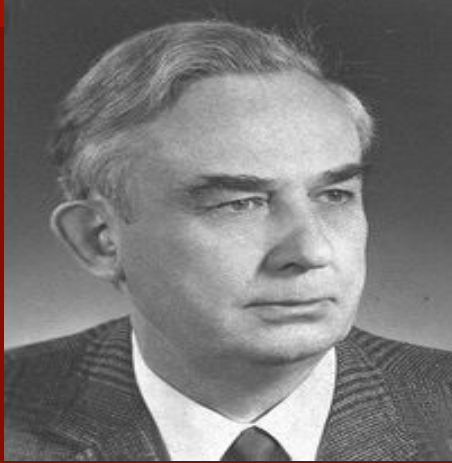
# Filogenia

## ❖ Conceito:

- É um ramo da Biologia o qual visa estudar as relações evolutivas entre os diferentes grupos de indivíduos existentes na terra (extintas ou não).
- **Ancestral comum**
- Árvores filogenéticas estimadas
- É impossível recuperar a **história completa** das relações de parentesco entre os grupos porque a maioria absoluta das espécies extintas não está preservada através de fósseis e porque ainda se conhece apenas uma parte pequena das espécies recentes.

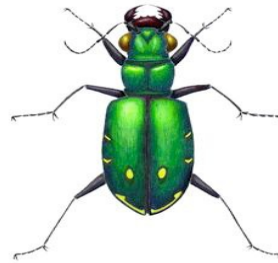
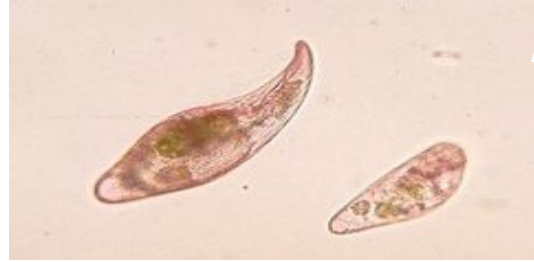
## ❖ Objetivos:

- Determinar a história evolutiva do gene, da função ou da espécie;
- Caracterizar ancestrais;
- Estimar tempo de divergência entre dois organismos desde o último ancestral compartilhado;



## Willi Hennig – 1950 – Entomologista Escola de classificação

- Sistemática Filogenética;
- Classificação sistemática de táxons de acordo com suas relações filogenéticas;
- Grupos monofiléticos**: grupo de táxons que inclui um ancestral comum e todos seus descendentes.



Qual é a  
filogenia  
desses  
organismos  
?

# Processos Evolutivos

## ■ Anagênese

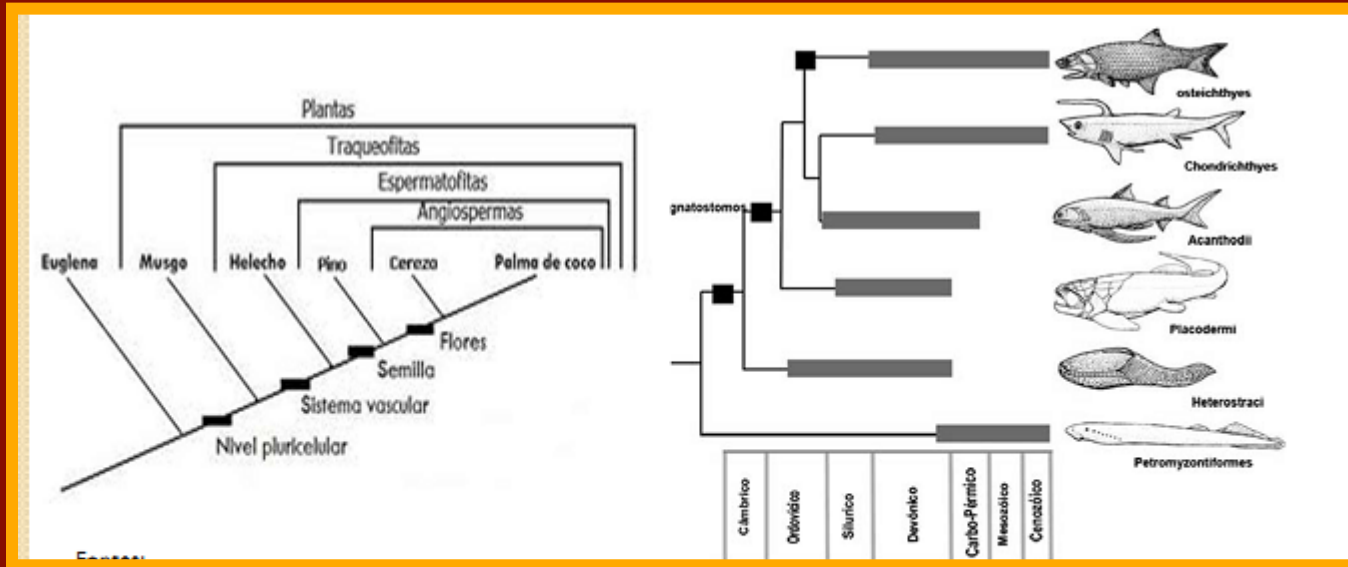
- Modificação na forma (em um sentido amplo) de qualquer ramo filogenético ao longo do tempo. Nesse processo estão envolvidos a **mutação**, a **recombinação**, **seleção**, **deriva genética** e a **fixação de alelos**.

## ■ Cladogênese

- Fragmentação de um ramo filogenético em dois ou mais ramos isolados que passam a evoluir independentemente. Os fatores causais são a **dispersão** e a **vicariância**.

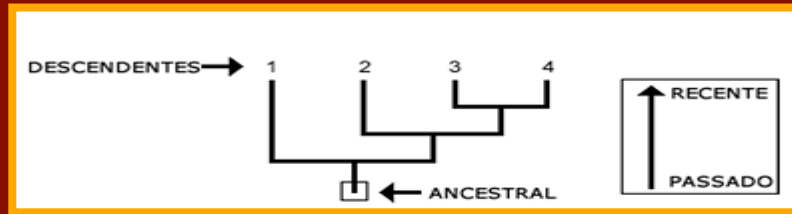
# Arvores Filogenéticas

- Pode ser considerada uma árvore genealógica;
- Pode englobar diversos níveis de agrupamentos dos seres vivos.



# Entendendo um árvore filogenética

- 1) A raiz da árvore representa a linhagem ancestral, e as pontas das ramificações representam os descendentes desse ancestral. Conforme você avança da raiz para as pontas, você está avançando no tempo.



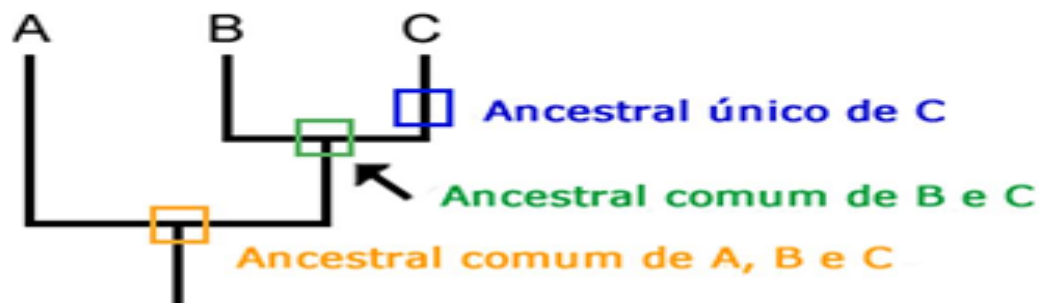
- 2) Quando uma linhagem se divide (espeiação – representada por um **nó** na árvore), é representada como uma ramificação na filogenia. Quando um evento de espeiação ocorre, uma única linhagem ancestral dá origem a duas ou mais linhagens filhas.



- 3) Filogenias traçam padrões de ancestralidade compartilhados entre linhagens. Cada linhagem tem uma parte de sua história que é única e outra parte que é compartilhada com outras linhagens.

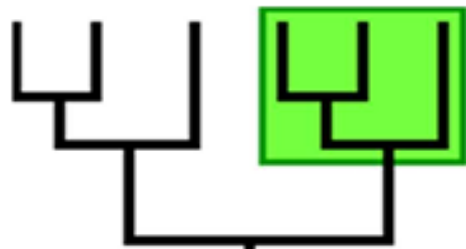


- 4) De forma semelhante, cada linhagem tem ancestrais que são únicos para aquela linhagem e ancestrais que são partilhados com outras – ancestrais comuns.

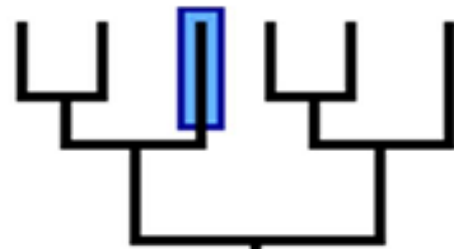




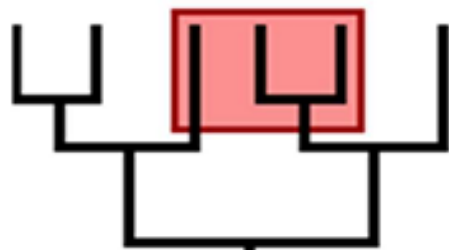
- Uma informação que é importante para os pesquisadores é saber quais grupos de seres vivos compartilham um único ancestral comum e exclusivo.
- Essa informação possibilita definir um clado válido a ser utilizado na filogenética.
- **Clado:** é um agrupamento que inclui um ancestral comum e todos os descendentes, vivos e extintos desse ancestral (Cladograma)



É um Clado



É um Clado



Não é um Clado



Não é um Clado

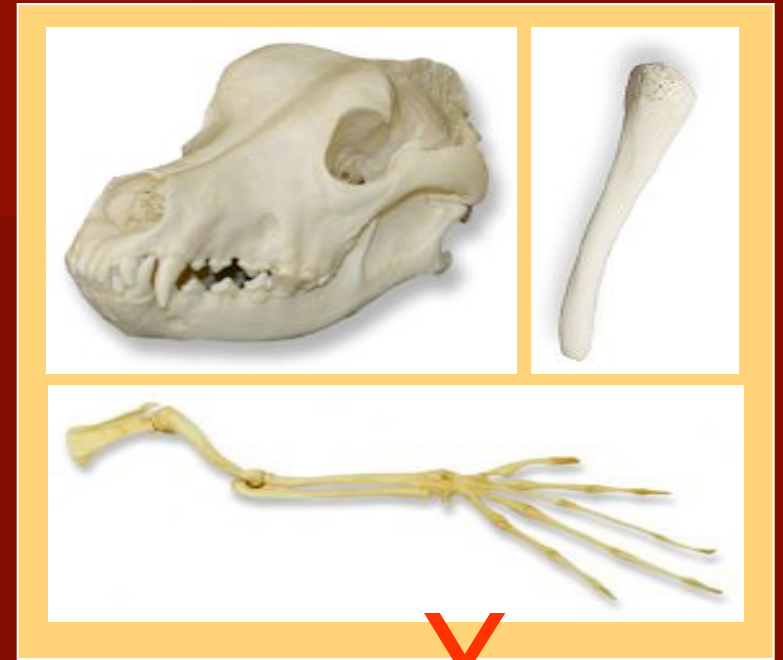
# Como construir uma AF

- Analisar, por diferentes parâmetros, representantes dos grupos que serão classificados;
- Os parâmetros podem ter diferentes naturezas:
  - Características morfológicas,
  - Características bioquímicas,
  - DNA
  - RNA

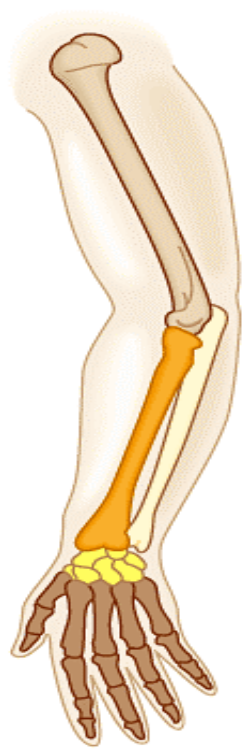
# Homologia

- Como a árvore filogenética é uma hipótese sobre relações evolutivas, precisamos usar características que sejam **indicadores confiáveis de ancestralidade** comum para construir a árvore.
- Nós utilizamos **características homólogas**: são aquelas similares que ocorrem em diferentes organismos porque foram herdadas de um ancestral comum que também tinha essa característica.

**Se queremos estudar as relações evolutivas de um certo grupo, como por exemplo os vertebrados, devemos primeiro comparar regiões homólogas do corpo**



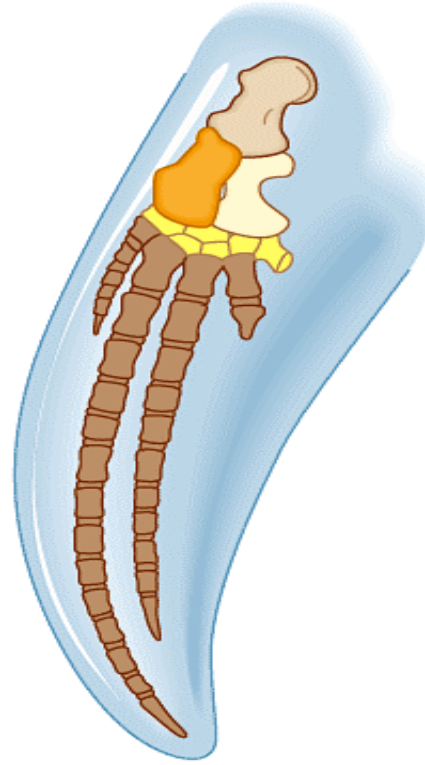
**Duas estruturas são ditas homólogas se elas são originárias de uma mesma estrutura ancestral (conceito ontogenético)**



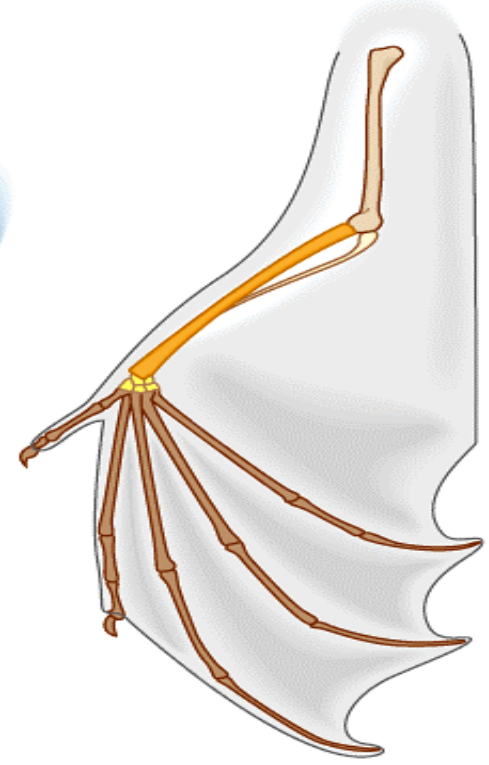
**Human**



**Cat**



**Whale**



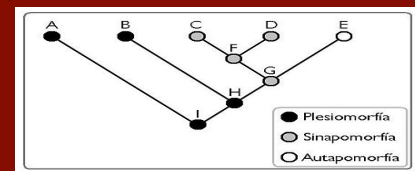
**Bat**

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

**Homologia** = similaridade com origem comum

# Estados de Caráter

- ❖ **Plesiomorfia:** característica considerada primitiva que foi modificada a outra mais recente dentro de uma linhagem.
  - ❖ Um caráter é **Simplesiomórfico** para o conjunto de todas as espécies que compartilham a condição plesiomórfica de um caráter.
- ❖ **Apomorfia:** característica recente **derivada** de uma característica primitiva de uma espécie ancestral.
  - ❖ **Sinapomorfia:** quando grupos têm um estado derivado (apomorfia) compartilhado. Sinapomorfias são indícios de ancestralidade comum exclusiva.
  - ❖ **Autapomorfias** são caracteres apomórficos para um único ramo terminal em um cladograma.





# Polarização do caráter: Plesiomorfia x apomorfia?

## ■ Método ontogenético

- Baseia-se na análise do desenvolvimento ontogenético ou embriológico de um indivíduo de um dos táxons que apresentem o estado X no adulto e verificarmos que na fase jovem este caráter aparece no estado Y, ou seja durante o desenvolvimento do individuo o estado Y se transformou no estado X.
- Estado Y: primitivo ou plesiomórfico
- Estado X: derivado ou apomórfico.
- Extrapolar esta transformação individual para a análise do grupo como um todo.
- Inferir a existência de um ancestral comum e exclusivo para os táxons que compartilham o estado apomórfico X



# Plesiomorfia x Apomorfia

## ■ Método Grupo Externo (out group)

- Devemos observar qual é o estado desse caráter em indivíduos pertencentes a taxons que não fazem parte do nosso grupo de estudo, ou seja externos aos nossos interesses;
- O estado verificado nos grupos externos será inferido como o primitivo, ou seja **plesiomórfico** e, por consequencia, o estado diferente daquele observado nos grupo externo, será o derivado ou **apomórfico**, indicando que os táxons que estamos estudando tem um ancestral em comum.
- Parcimônia = Economia

# Agrupamentos Taxonômicos

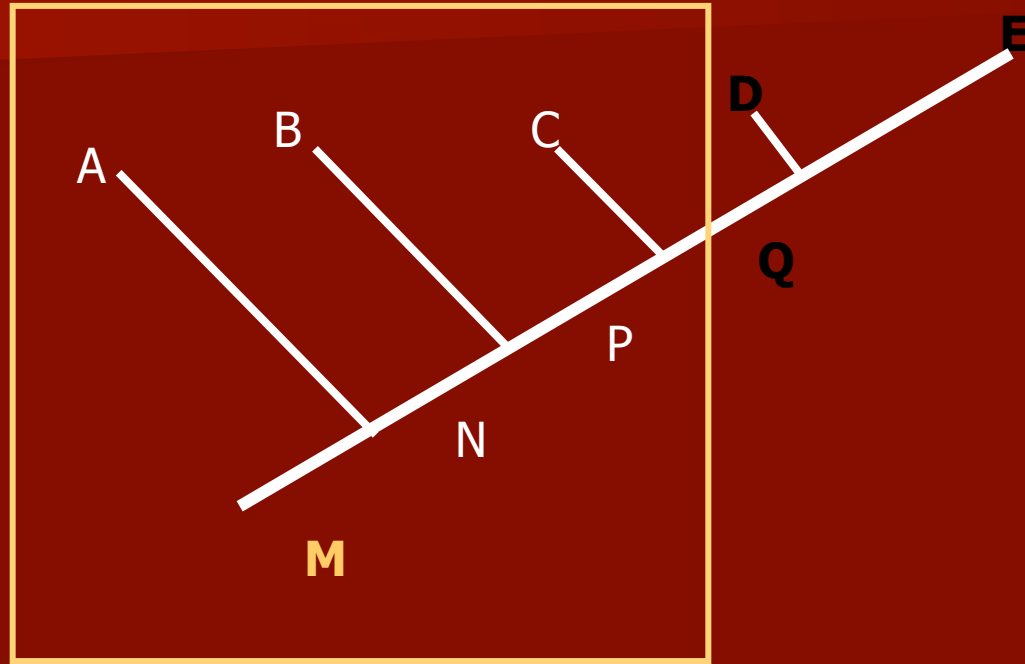
## ■ Grupos Monofiléticos

- Indica que um grupo é formado pela espécie ancestral e TODAS as suas espécies descendentes
- É um grupo natural evolutivo
- Cladismo

## ■ Grupos Merofiléticos

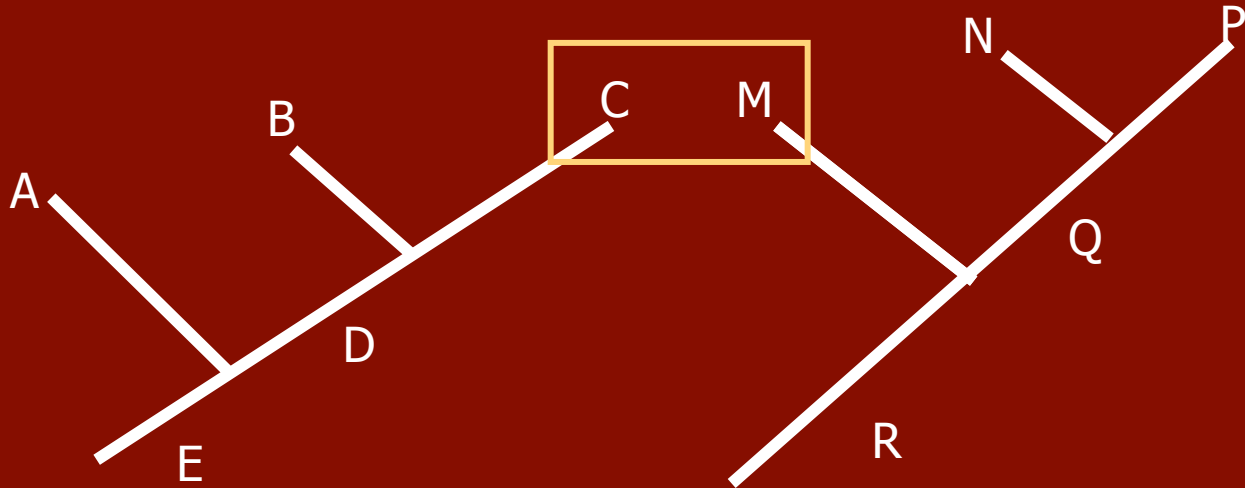
- Grupos não naturais evolutivamente falando, não monofiléticos
  - Grupo Parafilético
  - Grupo Polifiléticos
  - Não devem ser aceitos na Sistemática Evolutiva, pois esta só considera os grupos evolutivos naturais.

# Grupo Parafilético



**Grupo parafilético pois está constituído pelas espécies M (ancestral) mas não inclui todos os descendentes (D, Q, e E)**

# Grupo Polifilético



**O grupo C e M são polifiléticos porque têm ancestral diferentes**

# Métodos de Inferência da Filogenia

- Depende do número e tipo de características a serem comparadas.
- Características
  - Diferenças morfológicas
  - Diferenças nas sequências de DNA, genes ou de seus produtos (proteínas).
- Uma árvore deve ser feita a partir da comparação de múltiplos caracteres

# Métodos de Inferência

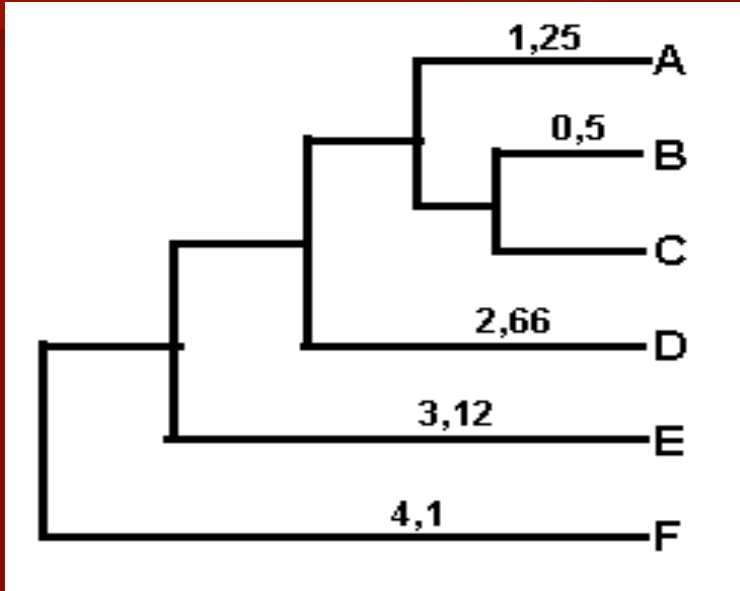
## ■ Fenéticos ou não baseados em um modelo evolutivo:

- Utilizam medidas de distancia, que consolidam estatisticamente as diferenças entre os caracteres em um número. Uma matriz de distancia entre todos os possíveis pares do grupo em estudo é criada e arvores são desenvolvidas agrupando aquelas com menor diferença num **fenograma**

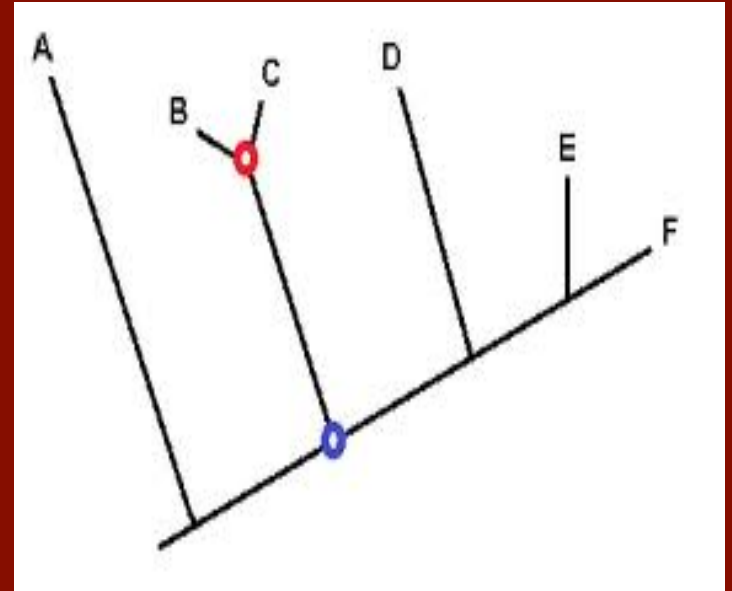
## ■ Método Cladísticos ou baseados em um modelo evolutivo:

- Calculam árvores para cada caráter e então indicam a melhor árvore através da determinação daquela que requer menor número de mudanças (parcimônia) ou aquela mais provável estatisticamente (máxima verossimilhança).
- A árvore que melhor explica os relacionamentos entre as seqüências de atributos é denominada **cladograma**.

# Árvores



Fenograma

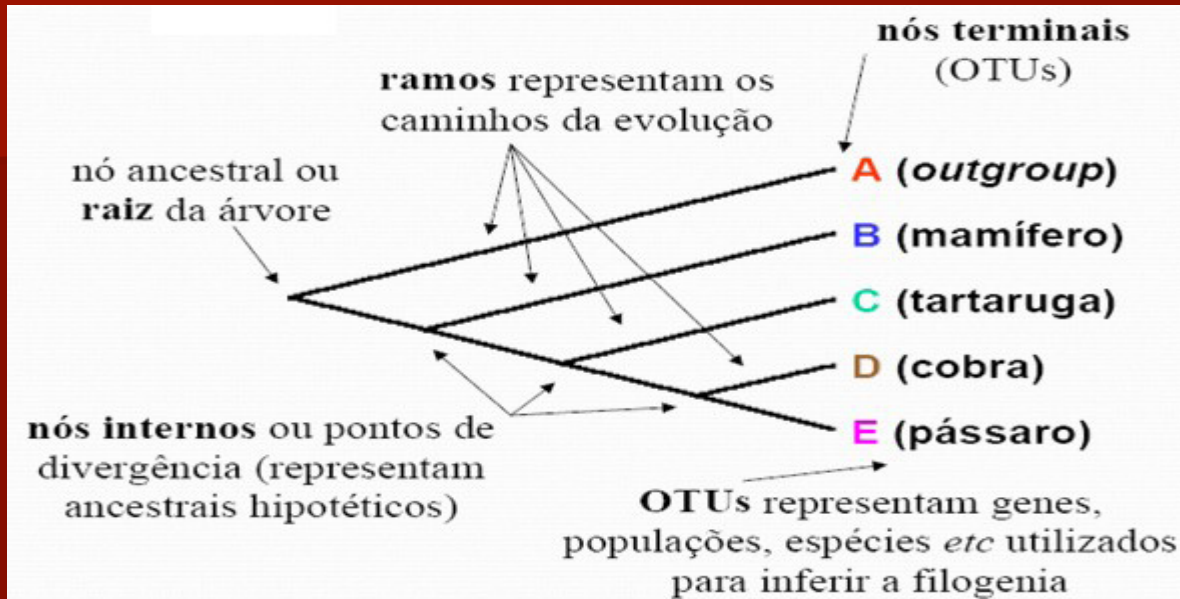


Cladograma



# Construção das Árvores

- Alinhamento: estabelecimento das homologias;
- Interpretação da árvore - interpretação das relações filogenéticas entre organismos.
- Estimativa da árvore - reconhecimento de padrões entre sequencias;

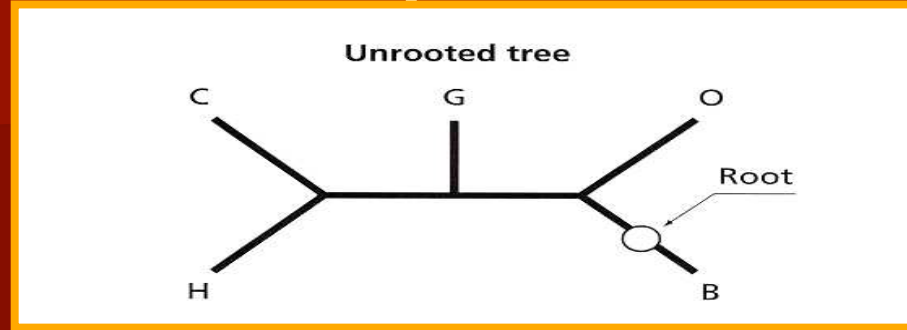


**OTUs: Operational Taxonomic Units ou Unidades Taxonômicas Operacionais**

**Nós internos: unidades ancestrais;  
Raiz: ancestral comum à todas as OTUs.**

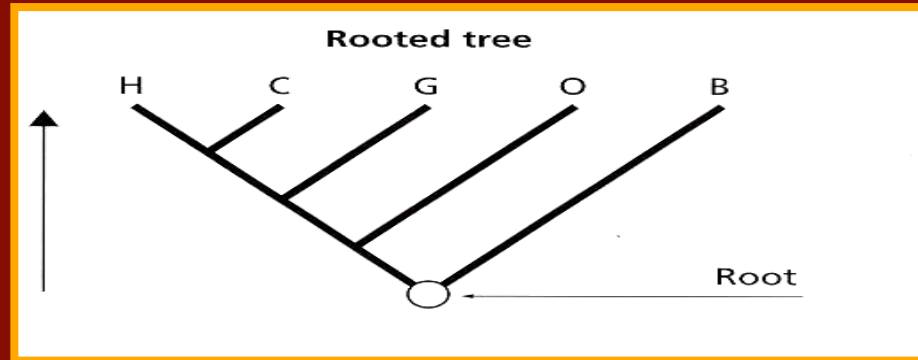
## Não enraizadas !!!!!

- Não aponta onde está a espécie ancestral de todo o grupo;



## Enraizadas

- Possuem um ancestral em comum.



# Métodos Fenéticos

- ❖ Árvore na qual a distância entre as OTUs refletem as distâncias evolutivas.
- ❖ **Vantagens:**
  - Podem ser utilizados com dados moleculares e morfológicos
  - Distâncias podem ser corrigidas para eventos “não vistos” através de modelos evolutivos;
  - São extremamente rápidos computacionalmente;
  - Portanto podem ser utilizados em conjuntos de dados muito grandes;
  - Possuem métodos estatísticos de teste bem estudados e podem ser utilizados diretamente para datação de eventos (apesar das controvérsias).
- ❖ **Desvantagens:**
  - Similaridade não significa necessariamente relacionamento evolutivo;
  - *Não pode ser utilizada para análise de caracteres.*

# UPGMA

## ■ Sneath & Sokal, 1973;

- É o método mais simples de construção de árvores filogenéticas a partir de dados de distancia
- Foi desenvolvido inicialmente para construção de fenogramas taxonômicos ou seja arvores que refletem similaridades fenotípicas entre táxons
- Pode ser utilizado para construir árvores filogenéticas se as taxas de evolução forem aproximadamente constantes;
- Emprega um algoritmo sequencial de agrupamento, no qual as relações são identificadas em ordem de similaridade e a árvore é construída passo a passo;

## ■ Vantagens e desvantagens:

- Quando os dados cumprem a proposta do algoritmo, o resultado fornece uma árvore filogenética ótima; é um método rápido; a desvantagem principal é que para dados reais, raramente se cumpre a propriedade ultra-métrica.

# Método da Máxima Parcimônia

- Parcimônia implica que as hipóteses mais simples são preferíveis às mais complicadas.
- É um método baseado no estado do caráter que infere a árvore filogenética, minimizando o número total de passos evolucionários para explicar um conjunto de dados
- Procura todas as topologias possíveis para achar uma árvore adequada; no entanto, o número de árvores não enraizadas que tem que ser analisada aumenta rapidamente com o número dos táxons.
- Número de árvores enraizadas
  - $(N_r) = (2n-3)! / [2^{n-2} (n-2)!]$
- Número de árvores não enraizadas
  - $(N_u) = (2n-5)! / [2^{n-3} (n-3)!]$  ..  $n = \text{táxons}$

## Vantagens:

- São simples, intuitivos e lógicos (em alguns casos é possível calcular “no braço” ).
- Pode ser usados em dados moleculares e morfológicos.
- Pode facilmente identificar tipos de homologia (sinapomorfias, plesiomorfias, etc) de homoplasias (convergência evolutiva, etc.)
- Pode ser utilizada para inferir as sequências de ancestrais hipotéticos extintos.

## Desvantagens:

- Não são métodos estatísticos
- Pode ser “enganado” quando o nível de homoplasias é muito alto.

# Máxima Verossimilhança

- Avalia a hipótese sobre a história evolutiva em termos da probabilidade de que o modelo proposto e a história hipotética dariam origem ao conjunto de dados observados;
- Assim, o método de máxima verossimilhança avalia a probabilidade de que um modelo evolutivo escolhido tenha gerado as características observadas.



### ❖ Vantagens:

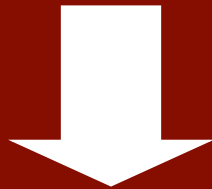
- São métodos estatísticos e baseados em modelos evolutivos.
- São considerados os métodos de maior consistência e robustez.
  - Pode ser usada para caracteres (pode inferir as substituições e localizá-la).
- Pode ser utilizada para inferir as sequências de ancestrais hipotéticos extintos.

### ❖ Desvantagens:

- Não é simples nem muito intuitivo.
- São computacionalmente muito intensos e limitam muito o número de táxons.
- Como na parcimônia pode ser enganado por excesso de homoplasia.
- Violações grandes ao modelo evolutivo pode levar a árvores incorretas

# Bootstrap

Teste estatístico para medir o grau de suporte dos nós nas árvores filogenéticas pelo alinhamento das sequencias.



**Teste de Confiança**

# Filogenia Molecular

- Quando se utiliza DNA para a análise filogenética deve-se escolher DNA que:
  - Evolua rápido o bastante para que as espécies em estudo mostrem diferenças umas das outras;
  - Evolua devagar o bastante para que não haja muita divergência.

- Se quisermos conhecer a relação de parentes próximos como espécies dentro de um gênero, então deve-se áreas do DNA que evoluem rapidamente, ou seja áreas neutras do DNA como os **introns**;
- Se quisermos saber a relação de parentes distantes como famílias ou ordens dentro de classes diferentes, então deve-se usar DNA que evolua a uma velocidade moderada, como **codante de proteínas**;
- Para grupos muito distantes como classes ou filos deve-se usar provavelmente **DNA ribossomal**.
  - DNA ribossomal nuclear: ITS
  - DNA cloroplastídico - cpDNA
    - Gene *rbcl*
  - Alto grau de conservação em tamanho, estrutura, conteúdo gênico, e ordem linear dos genes entre espécies aparentadas.

# Filogenia molecular – como fazer?

- Alinhamento – estabelecimento de homologias;
- Estimativa da árvore – reconhecimento de padrões entre seqüências;
- Interpretação da árvore – interpretação das relações filogenéticas entre organismos.

# INDELS



# Alinhamento

- Estabelece as posições homólogas entre as seqüências:
- Homologia pode ser confiavelmente inferida a partir de alta similaridade
- Se o alinhamento estiver ruim, toda a análise proveniente dele também o será.

# Alinhamento ruim – Sem homologia

<i>Aythya americana</i>	GACACAACCTCA-ACTAGCGG-----ATAAATCCAACCACCAACCTTA
<i>Guira guira</i>	TACTAAGCCTAG-GCCTACTCT----CTATAATCCTAGTCAT-AATCCAA
<i>Opisthocomus hoazin</i>	TACTCAGCAGTA-ATTAACATTAAG-CAATAAGTGCAAACCTT-GACTTAG
<i>Neomorphus geoffroyi</i>	TATATATCCTGACACTAATACTAA--TAGAAAAATTATCCTCAAACACAG
<i>Ortalis vetula</i>	CATCTACCTCCACATTGGTCGCGGT-TTTTACTATGGCTCAT-ACCTCTA
<i>Rhea americana</i>	CAATCGCTGAGTCACCAATCGCTTC-TCCACCCTCCAATCATGATTCCTT
<i>Gallus gallus</i>	CTTTCATTACTIONTAGCAGGTGTTTCCTCCATTCTAGGAGCCATCAACTTTA



# Alinhamento ruim – Muito perfeito

<i>Guzmania monostachya</i>	ATG GAA GAA TTA CAA GGA TAT TTA GAA AAA GAT AGA
<i>Vriesea malzinei</i>	... ..W. .R. ... .. .G. W..
<i>Hechtia glabra</i>	... ..
<i>Hechtia lindmanioides</i>	... ..
<i>Hechtia glomerata</i>	... ..
<i>Hechtia guatemalensis</i>	... ..
<i>Brocchinia acuminata</i>	... .. .A. ... ..
<i>Brocchinia micrantha</i>	... .. .A. ... ..
<i>Cottendorfia florida</i>	... ..
<i>Navia phelpsiae</i>	... ..
<i>Pepinia beachiae</i>	... ..
<i>Pitcairnia rubronigriflora</i>	... ..
<i>Pepinia corallina</i>	... ..
<i>Pepinia sprucei</i>	... ..
<i>Pitcairnia smithiorum</i>	... ..
<i>Pitcairnia orchidifolia</i>	... ..
<i>Pitcairnia recurvata</i>	... ..
<i>Pitcairnia squarrosa</i>	... ..
<i>Navia igneosicola</i>	... ..
<i>Deuterocohnia longipetala</i>	... ..
<i>Deuterocohnia sp.</i>	... ..
<i>Deuterocohnia lotteae</i>	... ..
<i>Pitcairnia heterophylla</i>	... ..

Bromeliáceas gene MatK cloroplasto



# Como alinhar?

**ATTGC**  
**ATGCT**  
**TGCAT**  
**GACTG**  
**CATGA**



$10^{18}$  possibilidades

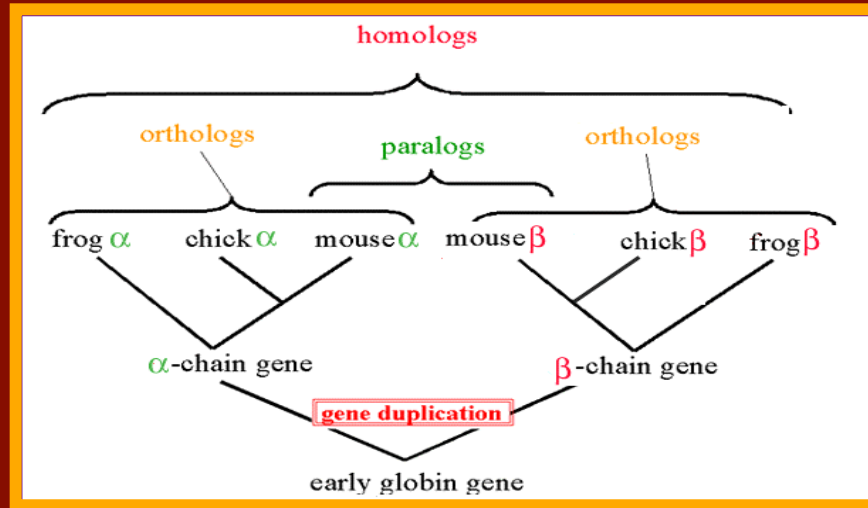
# Pressuposições

- Todas as seqüências são homólogas,
- Todos os sítios são homólogos,
- Nenhuma transferência horizontal
- Monofiletismo dos táxons terminais
- Posições evoluem independentemente

# Dois complicadores

**Genes Parálogos:** originados por duplicação antes ou depois da especiação – podem possuir ou não o mesmo papel biológico

**Genes Ortólogos:** originados de um único gene do último ancestral comum entre as espécies – frequentemente possuem o mesmo papel biológico



# Para estudos de:

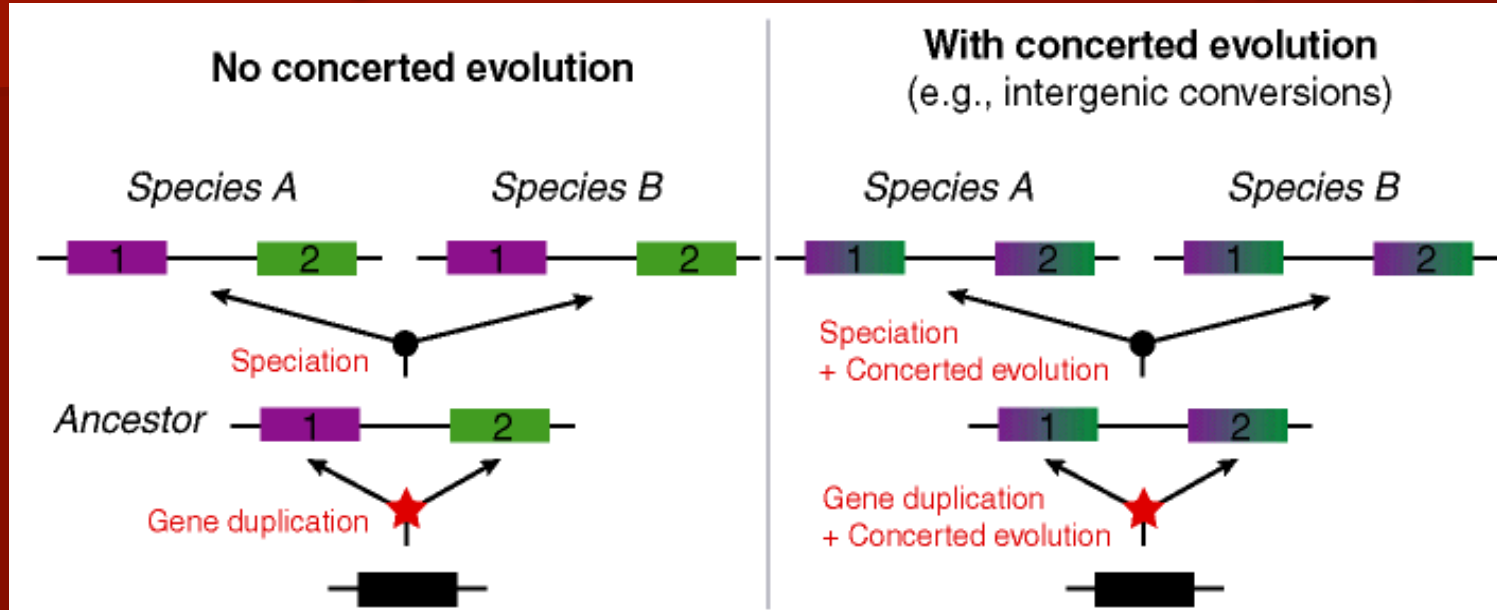
## ■ Famílias gênicas

– Use cópias parálogas dos genes em diferentes espécies

## ■ Filogenia de espécies

– Use a mesma cópia ortóloga nas espécies da filogenia

# Evolução em concerto (EC)



**Evolução em concerto:** evolução horizontal (dentro do indivíduo) gerando uma homogeneidade intra específica das seqüências gerando famílias multigênicas muito semelhantes entre si dentro da mesma espécie. O resultado é a homogeneidade encontrada entre sequencias não alélicas.

# Mecanismos de EC

- *Crossing over* desigual – muda o tamanho dos fragmentos
- **Conversão gênica** – não muda o tamanho