

---

## **EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE TRIACILGLICERÍDEOS EM PLANTAS: UMA ANÁLISE FILOGENÉTICA COMPARATIVA**

---

**MARIANA PIRES DE CAMPOS TELLES, NELSON ROBERTO  
ANTONIO SI FILHO, JOSÉ ALEXANDRE FELIZOLA DINIZ FILHO**

*Resumo: a análise de dados comparativos em um contexto filogenético explícito tem sido utilizada recentemente para avaliar os mecanismos envolvidos na evolução fenotípica, especialmente no sentido de tentar distinguir entre mecanismos adaptativos e não-adaptativos (evolução neutra). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar os padrões de evolução fenotípica dos triacilglicerídeos em plantas, utilizando os métodos filogenéticos comparativos. Os dados foram analisados utilizando-se os triacilglicerídeos individuais e também agrupados com base no número total de átomos de carbonos e de duplas ligações dos ácidos graxos presentes (TCL), a fim de verificar como análises em diferentes níveis da hierarquia química afetam a avaliação de padrões adaptativos e neutros na evolução desses fenótipos. Esses dados foram obtidos para 19 espécies, cuja relação filogenética foi estabelecida a partir de uma filogenia disponível na literatura e construída utilizando-se seqüências de nucleotídeos da região 18S do DNA ribossomal. Os padrões filogenéticos na composição química dos óleos foram analisados por meio de testes de Mantel e correlogramas calculados com base em índices I de Moran. Os testes de Mantel não foram significativos, indicando ausência de padrões filogenéticos multivariados na composição química dos óleos. Entretanto, dos 54 triacilglicerídeos analisados, 14 (26%) apresentaram correlogramas significativos, enquanto que 20% dos*

*TCL apresentaram correlogramas significativos. A ausência de fortes estruturas filogenéticas para a maior parte das variáveis ligadas à composição química dos óleos implica falta de possibilidade de predição a partir do conhecimento dos valores da variável em uma espécie filogeneticamente próxima, sem levar também em consideração o conhecimento mais detalhado das características ambientais e das pressões seletivas sobre as quais as espécies evoluíram. Para fins de taxonomia, essas características são de pouca utilidade exceto em níveis mais inclusivos da hierarquia biológica, e estudos anteriores com base nessa composição devem refletir mais similaridade ecológica e evolutiva, em termos de estratégia de vida, do que relações filogenéticas.*

Palavras-chave: *evolução fenotípica, triacilglicerídeos, autocorrelação*

O método comparativo vem sendo, desde os tempos de Darwin, uma das principais maneiras de estudar os padrões e processos na evolução biológica (HARVEY & PAGEL 1991; DINIZ-FILHO 2000). Mais especificamente, o método comparativo busca inferir processos de adaptação biológica a partir da relação entre os componentes da variação no fenótipo e no ambiente no qual as espécies estão inseridas, levando-se em consideração as relações filogenéticas entre elas (MARTINS, 1996). Essas relações filogenéticas entre as espécies, associadas aos modelos de evolução atuando nas características fenotípicas, tendem a gerar padrões filogenéticos nessas características, com duas principais implicações. Em primeiro lugar, uma vez que se conhece a estrutura filogenética de um grupo, é possível tentar inferir os processos de evolução a partir desses padrões e dos modelos evolutivos (DINIZ-FILHO, 2001; FRECKLETON, *et al.* 2002). Além disso, a existência de padrões filogenéticos em diferentes características tende a viesar o teste de significância estatística das análises de correlação entre essas características, que passa a ser muito liberal (FELSENSTEIN, 1985; MARTINS & GARLAND, 1991).

A análise de dados comparativos em um contexto filogenético explícito tem sido utilizada recentemente para avaliar os processos evolutivos que estão envolvidos na evolução fenotípica, especialmente no sentido de tentar distinguir entre mecanismos adaptativos e não-adaptativos (evolução neutra) (DINIZ-FILHO, 2000, 2001). De modo geral, espera-se que características adaptativas evoluam de forma independente dentro das linhagens analisadas, respondendo a pressões ambientais que variam, de um modo geral, de modo aleatório, eliminando desta forma os padrões filogenéticos comuns às diferentes espécies de um grupo. Por outro lado, os caracteres neutros tendem a evoluir lentamente, acompanhando a estrutura filogenética, mantendo assim um padrão inercial de evolução. Morales (2000) e Freckleton *et al.* (2002) mostraram recentemente que, de fato, caracteres ecológicos, comportamentais e de história de vida possuem um componente filogenético menor do que caracteres morfológicos. Métodos comparativos baseados no conceito de partição filogenética, tais como o modelo autoregressivo e a análise de autovetores filogenéticos (CHEVERUD *et al.*, 1985; GITTLEMAN & KOT, 1990; DINIZ-FILHO *et al.*, 1998) procuram, portanto, desdobrar a variação total (T) de um caráter quantitativo qualquer em seus componentes filogenético (P) e específico (S), que indicam respectivamente as tendências evolutivas comuns e a variação adaptativa de cada espécie. Estendendo esse raciocínio, Diniz-Filho (2001) mostrou que técnicas exploratórias de autocorrelação filogenética (correlogramas) podem ser úteis no sentido de detectar diferentes modelos de evolução em caracteres quantitativos. Considerando-se esses desenvolvimentos metodológicos recentes, é possível utilizar as técnicas de autocorrelação filogenética a fim de avaliar se a composição bioquímica dos óleos em plantas.

Informações estruturais, energéticas, bioquímicas e ecológicas sugerem que a temperatura é um agente seletivo importante que pode atuar modificando a composição dos óleos das sementes de plantas em altitudes elevadas, tendo como consequência um aumento proporcional de ácidos graxos insaturados em sua composição (WESTOBY *et al.*, 1992; HODKINSON *et al.*, 1998; LINDER, 2000). É provável que a temperatura de germinação selecione diferentes proporções relativas de ácidos graxos saturados e insaturados nos óleos das sementes, levando à

otimização da energia total estocada na semente e da taxa de produção de energia durante a germinação (REES & LONG, 1992).

Os ácidos graxos saturados armazenam mais energia por carbono do que os ácidos graxos insaturados, embora os ácidos graxos insaturados tenham ponto de fusão mais baixo que os saturados. Portanto, sementes com proporções menores de ácidos graxos saturados em seus óleos devem estar mais adaptadas a germinar e crescer mais rápido em baixas temperaturas, apesar de estocarem menos energia total que sementes com altas proporções de ácidos graxos saturados. Sementes que conseguem germinar e crescer mais rápido devem ter vantagens competitivas em relação às demais. Em temperaturas elevadas, as sementes com proporções elevadas de ácidos graxos saturados iriam ser seletivamente favorecidas devido à presença de mais energia em seus óleos (LINDER, 2000).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar os padrões de evolução fenotípica dos triacilglicerídeos em plantas utilizando os métodos filogenéticos comparativos, tomando como base as relações filogenéticas entre as espécies obtidas a partir de dados moleculares e modelando sua evolução por meio de correlogramas filogenéticos. Os dados foram analisados utilizando-se os triacilglicerídeos individuais e também agrupados com base no número total de átomos de carbonos e de duplas ligações dos ácidos graxos presentes (TCL), a fim de verificar como análises em diferentes níveis da hierarquia química afetam a avaliação de padrões adaptativos e neutros na evolução desses fenótipos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Informações sobre a composição percentual de triacilglicerídeos individuais, com base em análises cromatográficas, foram obtidas para os óleos extraídos de 19 espécies de plantas (ver ANTONIOSI FILHO, 1995 e ZUPPA, 2001). As espécies analisadas foram: *Asimina triloba*; *Annona squamosa*; *Annona muricata*; *Annona crassiflora*; *Allium sativum*; *Zea mays*; *Oryza sativa*; *Gossypium sp.*; *Swietenia macrophylla*; *Brassica napus*; *Carica papaya*; *Terminalia catappa*; *Juglans regia*; *Caryocar brasiliense*; *Caryocar*

*villosum*; *Olea europaea*; *Solanum aff. Lycocarpum*; *Helianthus annuus* e *Vitis vinifera*. Estas espécies foram selecionadas considerando que os respectivos gêneros estavam presentes na filogenia molecular utilizada para as análises comparativas (SOLTIS *et al.*, 2000). Para as análises, os triacilglicerídeos individuais também foram agrupados com base no número total de átomos de carbonos e de duplas ligações dos ácidos graxos presentes nos triacilglicerídeos (TCL), a fim de verificar a aplicabilidade do método comparativo a um sistema mais simples de análise química e identificação de triacilglicerídeos.

Neste sentido, os ácidos graxos presentes nos triacilglicerídeos foram identificados, de acordo com a Tabela 1, por uma notação que indica o número de átomos de carbono e o número e posição das insaturações do ácido graxo. Assim, o ácido oléico é representado por C18:1 *cis*9 indicando que este possui 18 átomos de carbono e uma insaturação na posição 9. Analogamente, um triacilglicerídeo que possua os ácidos graxos oléico (O; C18:1 *cis*9); linoléico (L; C18:2 *cis*9, *cis*12) e linolênico (Ln; C18:3 *cis*9, *cis*12, *cis*15) será representado por OLnL (1-oleato-2-linolenato-3-linoleato de glicerila) ou por T54:6 indicando um triacilglicerídeos cujos conjunto de ácidos graxos possuem um total de 54 átomos de carbono e seis insaturações.

Tabela 1. Ácidos graxos presentes nos óleos e gorduras das espécies vegetais analisadas.

Ácido graxo	Nome	Símbolo	Notação
Tetradecanóico	Mirístico	M	C14:0
<i>Cis</i> -9-tetradecenóico	Miristoleico	Mo	C14:1 <i>cis</i> 9
Hexadecanóico	Palmitico	P	C16:0
<i>cis</i> -9-Hexadecenóico	Palmitoleico	Po	C16:1 <i>cis</i> 9
Heptadecanóico	Margárico	Mg	C17:0
<i>cis</i> -9-Heptadecenóico	-	Hp	C17:1 <i>cis</i> 9
Octadecanóico	Estearico	S	C18:0
<i>cis</i> -9-Octadecenóico	Oleico	O	C18:1 <i>cis</i> 9
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12 Octadecadienóico	Linoleico	L	C18:2 <i>cis</i> 9, <i>cis</i> 12
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15 Octadecatrienóico	Linolênico	Ln	C18:3 <i>cis</i> 9, <i>cis</i> 12, <i>cis</i> 15
Eicosanóico	Araquídico	A	C20:0
<i>cis</i> -9 Eicosenóico	Gadoleico	Ga	C20:1 <i>cis</i> 9
Docosanóico	Behênico	Be	C22:0

A matriz de relacionamento filogenético entre as espécies estudadas, denominada matriz **F**, foi obtida da filogenia molecular proposta por Soltis *et al.* (2000), que por sua vez foi construída utilizando seqüências de nucleotídeos estabelecidas com a amplificação via PCR da região 18S do DNA ribossomal, proposta originalmente por Soltis *et al.* (1999; 2000) (Figura 1). Na realidade, essa matriz **F** expressa as ligações entre as espécies analisadas codificadas em níveis hierárquicos crescentes, estabelecendo-se, portanto, uma “distância” filogenética par-a-par entre as espécies.

Assim, por exemplo, a ligação entre as espécies de *Annona* se dá em um nível hierárquico 1, enquanto que a ligação entre os gêneros *Caryocar* e *Brassica* se dá em um nível hierárquico bem mais elevado, igual a 5.

A fim de avaliar os padrões evolutivos nas freqüências dos triacilglicerídeos e dos TCL, foram utilizadas estratégias de análise uni e multivariadas. Em um primeiro momento, foram construídas matrizes de distâncias euclidianas (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998), com base nas freqüências dos triacilglicerídeos e dos TCL (matrizes **D**<sub>1</sub> e **D**<sub>2</sub>), a fim de estabelecer o padrão filogenético na composição química multivariada dos óleos. Assim, testa-se a hipótese inicial de que a similaridade entre as espécies, calculada com base em todas as variações na composição química dos óleos, está correlacionada com as conexões filogenéticas expressas na matriz **F**. Estas matrizes **D** foram assim comparadas à matriz de distâncias filogenéticas **F** pelo teste Z de Mantel com 5000 permutações (MANLY, 1997). O valor do Z de Mantel é dado por:

$$Z = \sum_{i,j=1}^n F_{ij} D_{ij}$$

Em que  $F_{ij}$  e  $D_{ij}$  são elementos das matrizes **F** e **D** a serem comparadas (no caso, as matrizes de distâncias filogenéticas e de distâncias euclidianas entre as espécies com base na composição dos óleos, respectivamente). A significância do valor de Z pode ser obtida comparando-se esse valor observado com valores de uma distribuição nula, que por sua vez é obtida recalculando-se os valores de Z diversas vezes, aleatorizando, em cada uma delas, a ordem dos elementos de uma das matrizes. A estatística Z, na realidade, é utilizada para testar a significância do coeficiente de

correlação linear  $r$  de Pearson entre as matrizes (correlação matricial). O coeficiente de correlação de Pearson é mais facilmente interpretado do que a estatística  $Z$  de Mantel por apresentar limites de variação entre  $-1,0$  e  $1,0$  (MANLY, 1997). Valores próximos a zero indicam que as duas matrizes são independentes, ou seja, que as distâncias filogenéticas entre as espécies não explicam a variação na composição química dos óleos.

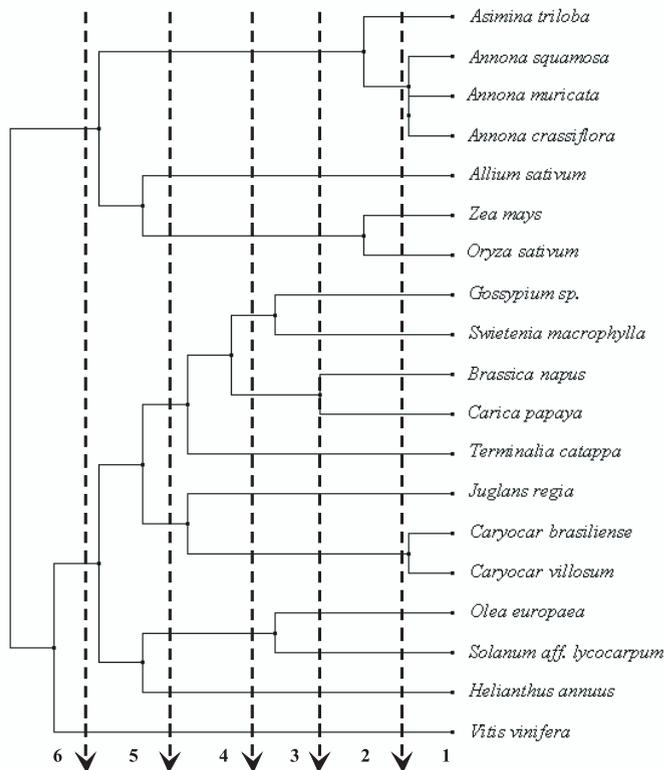


Figura 1. Estrutura hierárquica de ligação entre as espécies utilizada na análise comparativa da composição de triacilglicerídeos e TCL, definida a partir da filogenia molecular de Soltis *et al.* (1999, 2000), com as linhas tracejadas indicando as secções utilizadas para a definição das classes nos correlogramas.

Uma análise mais refinada dos padrões evolutivos nas frequências de cada um dos triacilglicerol e dos TCL pode ser obtida através de métodos de autocorrelação filogenética, com base no Índice

I de Moran. (DINIZ-FILHO 2001). O índice I de Moran é dado por:

$$I = \left( \frac{n}{S} \right) \left[ \frac{\sum_i \sum_j (p_i - \bar{p})(p_j - \bar{p})w_{ij}}{\sum_i (p_i - \bar{p})^2} \right]$$

Onde:  $n$  é o número de espécies analisadas;  $p_i$  e  $p_j$  são os valores das frequências de cada triacilglicerídeo ou TCL nas espécies  $i$  e  $j$ ,  $\bar{p}$  é o valor médio de  $p_i$  e  $w_{ij}$  é o elemento da matriz quadrada e simétrica  $\mathbf{W}$ , com dimensões  $n \times n$ , que expressa a relação filogenética entre as espécies. A soma dos elementos da matriz  $\mathbf{W}$ , ao longo das espécies  $i$  e  $j$  fornece o valor de  $S$  (número de conexões na matriz). A matriz  $\mathbf{W}$  é formada por valores 0 e 1, este último indicando se o par de espécies  $i$  e  $j$  está “ligado” ou não em um dado nível da hierarquia filogenética, expressa na matriz  $\mathbf{F}$  (ver abaixo).

O valor do índice I de Moran varia entre -1,0 e +1,0 na maior parte dos casos, sendo estes valores seus máximos para autocorrelações negativas e positivas, respectivamente. Assim, sua interpretação é análoga à de um coeficiente de correlação, como o  $r$  de Pearson (DINIZ-FILHO, 2000). Valores de I de Moran próximos a 1,0 indicam que as espécies ligadas em um dado nível de conexão filogenética tendem a ser, para o caráter estudado, similares entre si, enquanto que valores próximos a -1,0 indicam que essas espécies tendem a dissimilares. Os valores de I de Moran esperados quando não há padrão filogenético são dados por  $-1 / (n - 1)$ . Em algumas situações de conexão irregular, como acontece em análises comparativas, valores de I de Moran fora do intervalo  $[1, -1]$  podem ser obtidos (DINIZ-FILHO 2000). Detalhes do teste de significância estatística de cada I de Moran encontram-se em Legendre & Legendre (1998) e Diniz-Filho (2000), mas de um modo geral pode-se calcular o valor do desvio normalizado  $Z$ , dado por  $[I - E(I)] / e_1$ , onde  $e_1$  é o erro do I de Moran. Valores de  $Z$  maiores, em módulo, do que 1,96 indicam que o valor de I de Moran é significativamente diferente do esperado no nível de 5%.

Uma vantagem de utilizar as técnicas de autocorrelação é poder “decompor” a matriz de distâncias filogenéticas  $\mathbf{F}$  em várias classes de distância, permitindo assim obter diversas matrizes  $\mathbf{W}$  que

expressem a conexão entre os pares de espécies em níveis crescentes da hierarquia filogenética (DINIZ-FILHO 2000). Cada uma dessas matrizes é utilizada para calcular um novo índice I de Moran, de modo que é possível avaliar o comportamento da autocorrelação ao longo das ligações entre as espécies. A relação entre esses índices I de Moran e o nível de ligação filogenética forma um gráfico denominado correlograma. Deste modo, é possível detectar até que distância na filogenia (ou seja, o nível de ligação filogenética expresso em **F**), a característica analisada apresenta-se autocorrelacionada (ou seja, há similaridade na composição dos óleos entre as espécies). Neste trabalho, os correlogramas filogenéticos foram estabelecidos utilizando-se índices I de Moran calculados com base em seis diferentes matrizes de conexão filogenéticas **W** (Figura 1), sendo que a primeira classe agrupa espécies relacionadas (dentro de um mesmo gênero), enquanto que as demais indicam ligações entre espécies em níveis cada vez mais elevados da hierarquia filogenética.

Em biologia comparada, é comum encontrar alguns tipos de perfis de correlogramas (DINIZ-FILHO, 2001; TÔRRES & DINIZ-FILHO, 2004) (Figura 2). Um perfil comum sugere um padrão ‘clinal’ de variação no caráter, no qual espécies próximas filogeneticamente são semelhantes para o caráter estudado (autocorrelações positivas e significativas em níveis hierárquicos baixos), enquanto que as espécies mais distantes filogeneticamente são muito dissimilares (autocorrelações negativas).

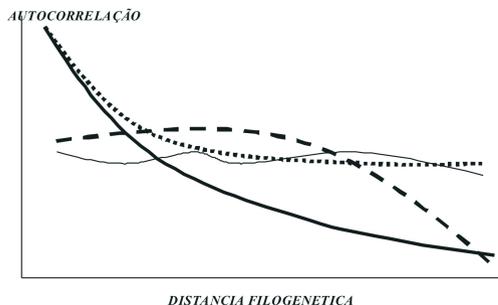


Figura 2. Perfis teóricos de correlogramas filogenéticos, mostrando a relação entre a autocorrelação e a distância filogenética para um caráter quantitativo. Esses perfis indicam a existência de um padrão clinal (linha cheia grossa), uma estabilização (linha tracejada), uma diferenciação de longa distância (linha pontilhada) ou a ausência de padrão filogenético (linha cheia fina).

O outro perfil também comum é um perfil de estabilização, onde a autocorrelação filogenética positiva decresce e tende a se estabilizar após uma dada distância filogenética em valores próximos a zero. Neste perfil, espécies muito distantes na filogenia podem ser similares ou dissimilares entre si, o que anula o padrão de autocorrelação nessas classes. Um perfil menos comum combina autocorrelações nulas na primeira classe de distância e autocorrelações negativas e significativas nas últimas classes. A ausência de autocorrelação filogenética indica que o caráter não está estruturado ao longo da filogenia utilizada como referencia. Esses perfis teóricos podem servir de comparação com os perfis encontrados, embora seja preciso considerar que os perfis observados tendem a apresentar muito mais variações aleatórias em torno desses padrões gerais, principalmente quando são analisadas amostras pequenas (i.e., poucas espécies) (ver TELLES & DINIZ-FILHO 2000).

Como a construção de um correlograma envolve diversos índices I de Moran, cada um deles testado estatisticamente, é preciso utilizar procedimentos de comparações múltiplas a fim de testar a significância estatística do correlograma total. Neste trabalho, a significância global do correlograma foi estabelecida pelo critério de Bonferroni, no qual um correlograma é considerado significativo apenas se um dos seus índices I de Moran for significativo ao nível de  $\alpha/k$ , onde  $\alpha$  é o nível de significância (5%) e  $k$  é o número de classes de distância ( $k = 6$ ).

## RESULTADOS

Os testes de Mantel mostraram que não há, considerando o padrão geral multivariado de semelhança entre as espécies, um sinal filogenético significativo na composição de triacilglicerídeos individuais ( $r = 0,0257$ ;  $P = 0,3364$ , com 10000 permutações) ou dos TCL ( $r = 0,0462$ ;  $P = 0,2389$ , com 10000 permutações). Assim, espécies mais próximas filogeneticamente não apresentam, necessariamente, composição química similar para o conjunto de triacilglicerídeos ou TCL.

Por outro lado, dos 54 triacilglicerídeos analisados através dos correlogramas filogenéticos, 14 apresentaram correlogramas significativos segundo o critério de Bonferroni (26%), indicando assim a presença de um componente filogenético em algumas variáveis

analisadas (Figura 3). Alguns dos triacilglicerídeos apresentaram correlogramas seguindo um padrão de estabilização na variação, com índices I de Moran significativos nas primeiras classes de distâncias, decrescendo à medida que a distância evolutiva aumenta até deixarem de ser significativos nas últimas classes de distâncias. Do mesmo modo, as análises realizadas com as frequências dos TCL mostraram que sete dos 34 correlogramas foram significativos (20%) seguindo o critério de Bonferroni (Figura 4), apresentando assim algum sinal de padrão filogenético.

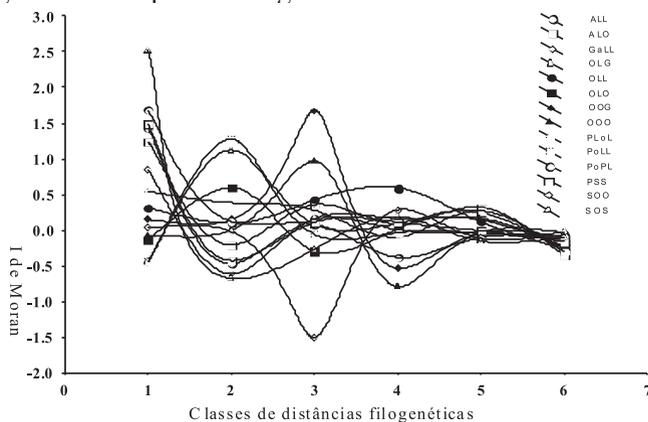


Figura 3. Correlogramas significativos segundo o critério de Bonferroni para as frequências dos triacilglicerídeos (ver Figura 1 para definição das classes de distância filogenética).

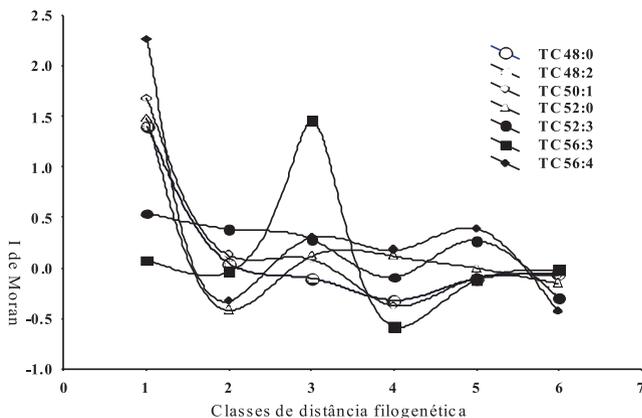


Figura 4. Correlogramas significativos segundo o critério de Bonferroni para as frequências dos triacilglicerídeos agrupados por TLC (ver Fig. 1 para definição das classes de distância filogenética).

Os dois conjuntos de correlogramas, apresentando perfis de estabilização, indicam que algumas das variáveis da composição química dos óleos tendem a ser semelhantes em espécies filogeneticamente próximas, mas à medida que a distância filogenética entre as espécies aumenta, deixa de ser possível fazer predições sobre a similaridade da composição química em cada triacilglicerídeo ou TCL. De um modo geral, a intensidade dos padrões filogenéticos nas primeiras classes de distância, medida pelos índices I de Moran, foi mais elevada para os triacilglicerídeos individualmente do que para os TCL (ver Figuras 3 e 4).

## DISCUSSÃO

Em termos de padrões evolutivos, os resultados obtidos nesse estudo mostraram que não houve um componente filogenético claro no conjunto total de dados analisados, tanto ao nível dos triacilglicerídeos quanto nos agrupamentos em TCL, utilizando o teste de Mantel comparando-se a matriz de distância filogenética com as matrizes de distância euclidiana multivariadas. Entretanto, analisando-se cada triacilglicerídeo e TCL utilizando os índices I de Moran, observa-se que alguns correlogramas se mostraram significativos, de modo que, quando esse componente filogenético existe, ele geralmente está restrito a níveis taxonômicos mais inclusivos (e.g., espécies em um mesmo gênero, ou em mesma subfamília). De um modo geral, esse resultado corrobora a hipótese de uma evolução adaptativa e não puramente inercial, principalmente em níveis hierárquicos mais elevados seguindo, por exemplo, o modelo proposto por Linder (2000). De fato, como estes compostos se encontram nas sementes dos vegetais e são utilizados como combustível de reserva de energia para a germinação de suas sementes, é bastante plausível a hipótese de que a composição química destes óleos de fato esteja respondendo a pressões seletivas dos diferentes ambientes a que estas espécies estejam submetidas ao longo do processo evolutivo, possuindo apenas um pequeno componente inercial ao longo da evolução do grupo. Entretanto, a existência de autocorrelação nas classes de distância filogenética menores indica que processos de conservação de nicho devem estar atuando no estabelecimento da composição química dos óleos nas plantas, mantendo espécies próximas

filogeneticamente mais semelhantes quanto à essa composição do que o esperado por processos puramente aleatórios de evolução (ACKERLY, 2004).

Ao se avaliar comparativamente o resultado das análises filogenéticas comparativas nos dois níveis (Figura 5), é possível verificar que sete triacilglicerídeos que apresentaram padrões inerciais, quando analisados separadamente, permaneceram como estavam quando agrupados em TCL, que 40 dos que apresentavam padrões adaptativos também permaneceram como estavam e que os outros sete deixaram de ser inerciais (ou seja, apresentaram correlogramas significativos) e passaram a ser adaptativos quando agrupados em TCL. Assim, como não houve nenhum caso de algum triacilglicerídeo deixar de ser adaptativo para ser inercial quando agrupado (TCL), isso sugere que estes agrupamentos têm uma coerência no sentido da atividade biológica que estes compostos exercem nas plantas. Nesses níveis mais elevados, os agrupamentos teriam um papel funcional mais claro e, portanto, o sinal filogenético nesse nível (TCL) seria menor do que nos triacilglicerídeos, cuja variação interespecífica estaria mais sujeita a processos puramente estocásticos de divergência fenotípica. Esse padrão é corroborado não só pela direção de mudança no padrão filogenético nos dados agrupados em TCL ou não, mas também pela menor proporção de TCL com sinal filogenético (20%), quando comparada à proporção de triacilglicerídeos (26%), e pela magnitude do sinal filogenético nos correlogramas. De fato, Linder

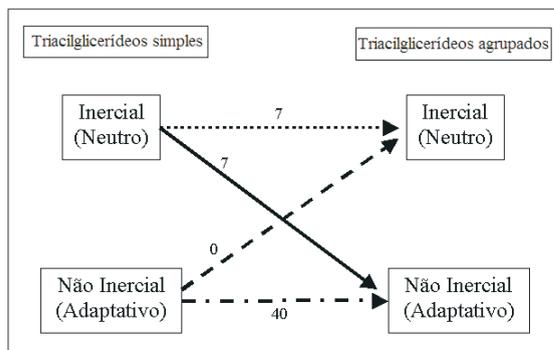


Figura 5. Representação esquemática do número de correlogramas que apresentaram padrão adaptativo ou neutro (inercial) para os triacilglicerídeos simples e agrupados em TCL.

(2000) analisou a composição dos óleos ao nível de ácidos graxos, confirmando essa ausência de efeitos sinérgicos em diferentes níveis da hierarquia química.

Finalmente, um aspecto geral relacionado à ausência de fortes estruturas filogenéticas para a maior parte das variáveis ligadas à composição química dos óleos implica também que, para fins de taxonomia, essas características devem ser usadas com cautela, e estudos anteriores com base nessa composição podem estar refletindo mais similaridade ecológica e evolutiva, em termos de estratégia de vida, do que relações de parentesco (AITZETMULLER, 1995; MANOS & STONE, 2001; MONGRAND *et al.*, 2001). De qualquer modo, os poucos coeficientes de autocorrelação filogenética significativos encontram-se nas primeiras classes de conexão filogenética, de modo que a composição química seria de fato útil apenas em estudos taxonômicos em níveis hierárquicos baixos, entre gêneros e espécies próximas.

## Referências

- ACKERLY, D. D. 2004. Adaptation, niche conservatism and convergence: comparative studies of leaf evolution in the California chaparral. *The American Naturalist* 163: 654-671.
- AITZETMULLER, K. 1995. Fatty acid patterns of Ranunculaceae seed oils: Phylogenetic relationships. *Plant Systematics and Evolution* 19: 229-240.
- ANTONIOSI-FILHO, N. R. 1995. *Análise de óleos e gorduras vegetais utilizando métodos cromatográficos de alta resolução e métodos computacionais*. 339p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo.
- CHEVERUD, J. M., DOW, M. M. & LEUTENEGGER, W. 1985. The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. *Evolution* 39: 1335-1351.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. 2000. *Métodos Filogenéticos Comparativos*. Ribeirão Preto, Holos.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. 2001. Phylogenetic autocorrelation under distinct evolutionary process. *Evolution* 55: 1104-1109.
- DINIZ-FILHO, J. A. F., SANT'ANA, C. E. R. & BINI, L. M. 1998. An eigenvector method for estimating phylogenetic inertia. *Evolution* 52: 1247-1262.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist* 125: 1-15.

- FRECKLETON, R. P.; HARVEY, P. H. & PAGEL, M. 2002. Phylogenetic dependence and ecological data: a test and a review of evidence. *The American Naturalist* 160: 712-726.
- GITTLEMAN, J. L. & KOT, M. 1990. Adaptation: statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. *Systematic Zoology* 39: 227-241.
- HARVEY, P.H. & PAGEL, M. 1991. *The Comparative Methods in Evolutionary Biology*. Oxford University Press, Oxford.
- HODKINSON, D. J., ASKEW, A. P., THOMPSON, K., HODGSON, J. G., BAKKER, J. P. & BEKKER, R. M. 1998. Ecological correlates of seed size in the British flora. *Functional Ecology* 12:762-766.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. 1998. *Numerical Ecology*. Amsterdam, Elsevier.
- LINDER, C. R. 2000. Adaptative evolution of seed oils in plants: accounting for the biogeographic distribution of saturated and unsaturated fatty acids in seed oils. *The American Naturalist* 156(4):442-458.
- MANLY, B. F. J. 1997. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*. London, Chapman & Hall.
- MANOS, P. S. & STONE, D. E. 2001. Evolution, phylogeny, and systematics of the Juglandaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88(2): 231-269.
- MARTINS, E. P. 1996. Phylogenies, spatial autoregression and the comparative method: a computer simulation test. *Evolution* 50: 1750-1765.
- MARTINS, E. P. & GARLAND Jr. T. 1991. Phylogenetic analyses of the correlated evolution of continuous characters: a simulation study. *Evolution* 45: 534-557.
- MONGRAND, S., BADOUC, A., PATOUILLE, B., LACOMBLEZ, C., CHAVENT, M., CASSAGNE, C. & BESSOULE, J. J. 2001. Taxonomy of gymnospermae: multivariate analyses of leaf fatty acid composition. *Phytochemistry* 58: 101-115.
- MORALES, E. 2000. Estimating phylogenetic inertia in *Tithonia* (Asteraceae): a comparative approach. *Evolution* 54: 475-484.
- REES M. & LONG, M. J. 1992. Germination biology and the ecology of annual plants. *American Naturalist* 139: 484-508.
- SOLTIS, P. S., SOLTIS, D. E. & CHASE, M. W. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402(25): 402-403.
- SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., CHASE, M. W., MORT, M. E., ALBACH, D. C., ZANIS, M., SALVOLAINEN, V., HAHN, W. H., HOOT, S. B., FAY, M. F., AXTELL, M., SWENSEN, S. M., PRINCE, L. M., KRESS, J., NIXON, K. C. & FARRIS, J. S. 2000. Angiosperm phylogeny inferred from 18S r DNA, rbcL,

and *atpB* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 133: 381-461.

TELLES, M. P. C. & DINIZ-FILHO, J. A. F. 2000. Null expectation of spatial correlograms under a stochastic process of genetic divergence with small sample sizes. *Genetics and Molecular Biology* 23(4): 739-743.

TÔRRES, N. M. & DINIZ-FILHO, J. A. F. 2004. Phylogenetic autocorrelation and evolutionary diversity of Carnivora (Mammalia) in conservation units of the new world. *Genetics and Molecular Biology* 27(4): 511-516.

WESTOBY, M.; JURADO E. & LEISHMAN, M. 1992. Comparative evolutionary ecology of seed size. *Trends in Ecology and Evolution* 7: 368-372.

ZUPPA, T. O. 2001. *Avaliação das potencialidades de plantas nativas e introduzidas no cerrado na obtenção de óleos e gorduras vegetais*. 116p. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

*Abstract: comparative data analysis in a explicit phylogenetic context have been used to evaluate the mechanisms involved in phenotypic evolution, mainly to distinguish adaptive and non-adaptive (neutral) processes. In this context, the purpose of this paper was to analyze patterns of phenotypic evolution of triacilglicerids of plants using phylogenetic comparative methods. Data included both individual triacilglicerids and frequencies of these triacilglicerids grouped by total number of carbon atoms and links among fat acids (TCL), allowing to evaluate how analyses performed at different levels of chemical hierarchy change the interpretation of evolutionary processes in these phenotypes. Data were obtained for 19 species, whose phylogenetic relationships were established based on analyses of DNA sequences from 18S ribossomal DNA gene available in the literature. Phylogenetic patterns in the phenotypes was analyzed using Mantel tests and correlograms based on Moran's I coefficients. Mantel tests were not significant, indicating absence of phylogenetic signal at multivariate level. However, out of 54 triacilglicerids analyzed, 14 (26%) showed significant correlograms, whereas 20% of the TCL showed significant correlograms. The absence of a strong phylogenetic signal for most of variables of oil composition, based on a molecular phylogeny, indicates that chemical composition of oil in these species cannot be predicted based on closely related taxa and that strong adaptive mechanisms are involved in these traits across related species. This also suggests that, for*

*taxonomic purposes, these characteristics are not very useful except at low taxonomic levels, and that patterns established by previous studies using these traits will probably reflect more frequently ecological adaptations than phylogenetic relationships.*

Key words: *phenotypic evolution, triacilglicerids, autocorrelation*

MARIANA PIRES DE CAMPOS TELLES  
Universidade Católica de Goiás. *E-mail:* mpctelles@pq.cnpq.br

NELSON ROBERTO ANTONIOSI FILHO  
Universidade Federal de Goiás. *E-mail:* nelson@quimica.ufg.br

JOSÉ ALEXANDRE FELIZOLA DINIZ-FILHO  
Universidade Federal de Goiás.