

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE GENETES E RAMETES DE *Egeria najas* Planch (Hydrocharitaceae) OCORRENTES NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU/BRASIL.

Lucas Cioli Torquato (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Karina Fidanza Rodrigues (Orientadora). Email: kfrodrigues@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Maringá, PR.

Ciências Biológicas / Genética Vegetal

Palavras-chave: Genética de macrófitas; Caracterização reprodutiva; ITS.

RESUMO

Elodea najas (Planch) Casp. (Hydrocharitaceae) é uma macrófita aquática submersa encontrada na bacia do Rio Paraná e apresenta, em grande parte, reprodução vegetativa. Essa espécie possui flores dioicas, mas as evidências de reprodução sexuada permanecem escassas. O objetivo deste estudo foi caracterizar molecularmente espécimes de *E. najas* coletadas no Reservatório de Itaipu, utilizando a região ITS do DNA nuclear (nrDNA) para investigar a ocorrência de reprodução sexuada. Para isso, foram utilizados 11 exemplares coletados nesse reservatório em 2024. O DNA foi extraído das folhas, amplificado por PCR e sequenciado. As sequências obtidas foram alinhadas com registros do GenBank e analisadas por meio de distâncias genéticas. O levantamento dos haplótipos da espécie e inferências filogenéticas também foram realizados e indicaram dois haplótipos de *E. najas* com baixa distância genética, corroborando a predominância de reprodução assexuada. Verificou-se clara separação filogenética entre *E. najas* e sua congênere *E. densa*. A baixa diversidade haplotípica sugere que a dinâmica populacional de *E. najas* segue padrões de metapopulação, reforçando a hipótese de reprodução vegetativa como mecanismo predominante. Contudo, a estrutura floral traz questões sobre possíveis adaptações reprodutivas relacionadas à reprodução sexual que precisam ser melhor estudadas.

INTRODUÇÃO

Egeria najas (Planch.) Casp., recentemente transferida para o gênero *Elodea* com base em dados moleculares (Bernardini & Lucchese, 2018), é uma macrófita aquática submersa, dioica e de água doce pertencente à família Hydrocharitaceae. No Brasil, ocorre principalmente na região Centro-Sul, apresentando flores unissexuais (Cook & Urmi-König, 1984). Embora disponha de aparato floral para a reprodução sexuada, os registros de frutos e sementes na natureza são raríssimos. Estudos clássicos de Cook & Urmi-König (1984) já apontavam essa limitação e

escassez de evidências ao realizar levantamentos em herbários e em bases de dados.

Na prática, a espécie se perpetua predominantemente por reprodução assexuada, via fragmentação clonal, garantindo rápida colonização de novos ambientes, porém apresenta menor variabilidade genética e dispersão restrita a curtas distâncias (Cook & Urmi-König, 1984). O paradoxo reside no fato de *E. najas* manter flores funcionais, mesmo sem registros consistentes de reprodução sexuada, sugerindo pressões seletivas históricas ou mecanismos reprodutivos ainda pouco compreendidos.

Do ponto de vista evolutivo, esse dilema é particularmente relevante porque a Hydrocharitaceae apresenta grande diversidade de sistemas reprodutivos (Cook & Urmi-König, 1984). Nesse sentido, *E. najas* constitui um modelo biológico importante para investigar os limites e a persistência da reprodução sexuada em plantas aquáticas, contribuindo para a compreensão da evolução de estratégias reprodutivas em macrófitas, a partir de sua origem de linhagens terrestres que reconquistaram o ambiente aquático (Cook, 1999).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar molecularmente os espécimes de *E. najas* no reservatório de Itaipu por meio da região ITS do DNA nuclear (nrDNA), a fim de verificar a ocorrência de reprodução sexuada na espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em julho de 2024 foram coletados onze exemplares de *E. najas* nos rios Ocoy, Pinto, São João e São Vicente, localizados no reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu, margem brasileira. O material foliar foi acondicionado em tubos Falcon contendo solução tampão TE buffer (pH 8.0; Tris-HCl 1 M, EDTA 0,5 mM).

A extração do DNA foi realizada com o kit Promega Wizard® Genomics, seguindo as instruções do fabricante. A região ITS do DNA nuclear foi amplificada utilizando primers específicos, e os produtos obtidos foram visualizados em gel de agarose a 1%. O tamanho dos fragmentos foi estimado a partir de um marcador de peso molecular conhecido (DNA Ladder 100 pb). Posteriormente, os produtos amplificados foram purificados de acordo com o protocolo descrito por Rosenthal et al. (1993).

O sequenciamento foi conduzido em equipamento Applied Biosystems® AB-3500, utilizando o kit BigDye® Terminator, em empresa especializada. As sequências resultantes foram editadas e alinhadas com dados disponíveis em bancos de sequências para *E. najas* (n = 34) e *E. densa* (n = 36). A determinação dos haplótipos foi realizada no programa DnaSP v5 (Librado & Rozas, 2009). As distâncias genéticas p foram calculadas no MEGA 7 (Kumar et al., 2016), no qual também foi construída uma árvore gênica pelo método de máxima verossimilhança com 1000 reamostragens de bootstrap, empregando o modelo de substituição de nucleotídeos Kimura-2-parameter. Como grupo externo, utilizou-se *Hydrilla verticillata* (MK819403.1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após edição e alinhamento, foi obtido um fragmento de 704 pares de bases (bp) para o marcador ITS em dez amostras de *E. najas*. As análises revelaram que as sequências coletadas se agruparam com aquelas previamente registradas para a espécie no banco de dados, formando um clado bem definido e distinto de sua congênera *E. densa*. A distância genética observada entre as duas espécies foi de 13,2%, evidenciando clara separação filogenética, como mostra a Figura 1.

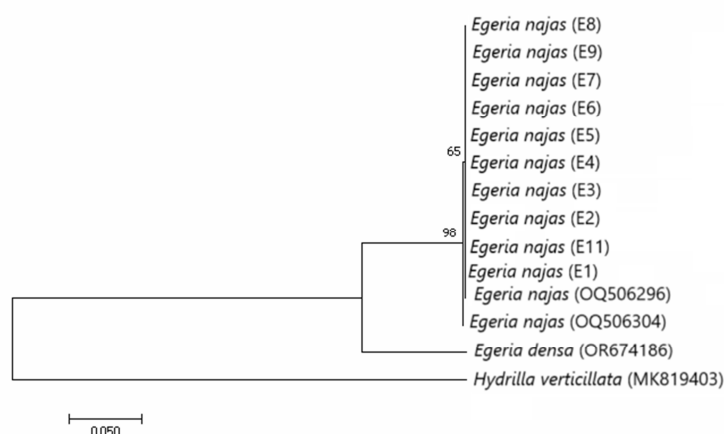


Figura 1 – Árvore gênica construída a partir de sequências do marcador ITS, relacionando *E. najas* coletadas e do GenBank com *E. densa* e *Hydrilla verticillata*, também presentes no banco de dados.

Foram identificados dois haplótipos para *E. najas*. O haplótipo H1 reuniu 37 sequências, incluindo as 10 obtidas neste estudo e outras 27 provenientes do banco de dados. Já o haplótipo H2 foi composto por sete sequências exclusivas do banco de dados. A distância genética entre os dois haplótipos foi extremamente baixa (0,2%), refletindo a reduzida diferenciação intraespecífica.

O esforço amostral limitado ao Reservatório de Itaipu, aliado à utilização de um único marcador molecular, pode ter contribuído para a subestimativa da diversidade genética da espécie. Ainda assim, os resultados demonstram que a variabilidade genética de *E. najas* é notavelmente baixa, corroborando estudos anteriores (Lucio et al., 2024) que apontam para uma dinâmica de metapopulação sustentada predominantemente por reprodução assexuada via fragmentação, explicando a baixa diversidade haplotípica observada e a escassez de registros de frutos na natureza.

No entanto, persiste a dúvida: se a espécie se mantém via reprodução vegetativa, por que investir de forma recorrente na produção de flores? Essa dúvida abre espaço para a investigação evolutiva e ecológica acerca da floração em *E. najas*, mesmo diante da raridade de reprodução sexuada bem-sucedida.

CONCLUSÕES

Este estudo amplia o conhecimento sobre a diversidade genética de *E. najas* no reservatório de Itaipu, evidenciando baixa variabilidade haplotípica associada à

predominância da reprodução assexuada. Apesar disso, o investimento contínuo na produção de flores permanece como um paradoxo evolutivo ainda não esclarecido. Pesquisas futuras com marcadores adicionais e maior abrangência espacial serão essenciais para avaliar o possível papel residual da reprodução sexuada na espécie.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq, ao Laboratório de Sistemática e Biogeografia de Plantas e ao Laboratório de Genética Molecular pelo acolhimento e todo crescimento acadêmico.

REFERÊNCIAS

BERNARDINI, B.; LUCHESE, F. New phylogenetic insights into Hydrocharitaceae. *Annali di Botanica* (Roma), v. 8, p. 45-58, 2018.

COOK, C. D. K., & URMI-KONIG, K., 1984. A revision of the genus *Egeria* (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany* 19: 73–96.

COOK, C. D. K. The number and kinds of embryo-bearing plants which have become aquatic: a survey. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, v. 2, n. 1, p. 79-102, 1999.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, p. 1870–1874, 2016. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, [S. l.], v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp187. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.

LÚCIO, Léia Carolina *et al.* Genetic diversity and occupation strategy of *Egeria najas* (Hydrocharitaceae) in different habitats along the Upper Paraná River corridor. *Aquatic Botany*, [S. l.], v. 191, p. 103729, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2023.103729>

ROSENTHAL, A.; COUTELLE, O.; CRAXTON, M. Large-scale production of DNA sequencing templates by microtitre format PCR. *Nucleic Acids Research*, v. 21, n. 1, p. 173-174, 1993. DOI: 10.1093/nar/21.1.173.