



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

GENÔMICA ORGANELAR E EVOLUÇÃO DE *GENLISEA* E *UTRICULARIA*

(LENTIBULARIACEAE)

SAURA RODRIGUES DA SILVA

**Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica)**

BOTUCATU - SP

- 2018 -

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

GENÔMICA ORGANELAR E EVOLUÇÃO DE *GENLISEA* E *UTRICULARIA*

(LENTIBULARIACEAE)

SAURA RODRIGUES DA SILVA

PROF. DR. VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

ORIENTADOR

PROF. DR. ALESSANDRO DE MELLO VARANI

Coorientador

**Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica)**

BOTUCATU - SP

- 2018 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

Silva, Saura Rodrigues.

Genômica organelar e evolução de *Genlisea* e *Utricularia*
(Lentibulariaceae) / Saura Rodrigues da Silva. – 2018.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências
de Botucatu, 2018.

Orientador: Vitor Fernandes Oliveira de Miranda

Co-orientador: Alessandro de Mello Varani

Assunto CAPES:

1. Sistemática Vegetal

CDD 581.1

Palavras-chave: *Utricularia*; *Genlisea*; genômica de organelas; ndhs;
Evolução de organelas.



Dedico esta tese a minha mãe que sempre foi a minha maior incentivadora, amiga e meu porto seguro em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Escrever uma tese é tarefa árdua, repleta de percalços e desafios. No entanto, tive o privilégio de compartilhar estes momentos com adorados amigos e familiares que tornaram o desenvolvimento deste trabalho pleno de realizações e alegrias.

Gostaria imensamente de agradecer ao meu orientador, Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda, que desde a minha graduação, há 9 anos, ainda na Universidade de Mogi das Cruzes, me abriu uma das mais importantes oportunidades de minha vida que foi justamente desenvolver o meu trabalho com botânica, pela qual, desde a iniciação científica, sou absolutamente apaixonada. Sinto-me privilegiada por ser sua orientanda e por ter recebido todo apoio científico, contando com a sua competência exemplar e muito mais ainda pela grande amizade, dedicação e companheirismo. Por acreditar em cada coisa maluca que me vinha à cabeça, me desafiar e me apoiar visando o meu aperfeiçoamento e incentivando-me a almejar objetivos cada vez maiores.

Ao meu coorientador Dr. Alessandro de Melo Varani e ao Dr. Daniel Guariz Pinheiro por me auxiliarem nas análises e pelas discussões extremamente frutíferas. Sou extremamente grata pela contribuição e fortalecimento das discussões científicas por meio das leituras e observações críticas a respeito dos manuscritos aqui apresentados.

Ao Dr. Todd Michael e ao Dr. Elliott Meer, tendo em vista que não seria possível realizar grande parte desse trabalho sem as suas inestimáveis contribuições científicas e técnicas.

À minha mãe, Márcia Rejane Rodrigues, como a pessoa mais importante da minha vida, que sempre me ensinou a ter paixão pelo conhecimento, a viver com garra, responsabilidade, independência, a nunca desistir dos objetivos, a lutar, e independentemente dos obstáculos e percalços, nunca perder a alegria e sempre celebrar as conquistas.

Ao meu namorado, André Assis de Melo Neto, que ao longo desses 5 anos, sempre com muito amor e carinho, esteve ao meu lado em todos os acontecimentos e me compreendeu, mesmo nos momentos mais difíceis dessa jornada, sempre me incentivando a continuar o meu aprimoramento. Me proporcionou equilíbrio com toda sua calma e inteligência e, mesmo quando estava triste ou cansada, trouxe-me alegria e cores em forma de

minhas músicas preferidas ao tocá-las divinamente em seu piano. Minha maior felicidade foi tê-lo escolhido como companheiro de vida.

Aos meus familiares, que me apoiaram e foram sempre compreensivos, principalmente durante os momentos de ausência em que estive envolvida na execução desse projeto.

Aos meus colegas de Laboratório de Sistemática Vegetal, Cristine Gobbo Menezes, Dasmiliá Arozarena, Fernanda Gomes Rodrigues, Giovanni Astuti, Guilherme Camara Seber, Néstor Marulanda, Yani Aranguren, Yoannis Domingues Rodrigues, e aos colegas do Laboratório de Bioinformática, Luciano Kishi, Luis Teheran, Maria Fernanda, Michelli G. Funnicelli, Rafael Correia, Wellington Omori, pelas frutíferas discussões e sugestões e companheirismo.

Aos colegas Nilber Silva e Bruno Garcia por ajudarem durante as coletas e sempre estarem dispostos a mandar mais amostras caso fossem necessárias.

Aos professores Dr. Lorenzo Peruzzi (Universidade de Pisa) e Dra. Ana Paula de Moraes (UFABC) que contribuíram grandemente nas análises relacionadas a citogenética.

Aos meus grandes amigos que sempre estiveram ao meu lado acompanhando as alegrias e os dramas diários desde o princípio dessa jornada, Talyta Schartmann Ribeiro de Souza, Elias Matarazzo, Helen Penha, Gabriela Fernandes, Caroline Bartoli e Beatriz Yonamine.

Aos colegas do Instituto de Biociências de Botucatu, Felipe Giroto, Camila Zanetti, Ricardo Tozin, Angélica Lino Rodrigues, Carol que, apesar dos poucos momentos de convívio, foram sempre solícitos diante de eventuais necessidades.

À coordenadora Dra. Carmen Boaro por sempre nos incentivar a melhorar nossa formação e a nos ensinar a não pensarmos somente em nós mesmos, mas trabalharmos como equipe juntos com o programa de Botânica e assim alcançarmos notas de excelência dentro do nosso programa de pós-graduação.

Aos funcionários da seção técnica de pós-graduação pelo apoio técnico e atenção.

Ao Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e a FAPESP pelo apoio financeiro e, principalmente pelo interesse neste estudo.



A UNESP/FCAV de Jaboticabal pela infraestrutura.

A todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização.

ÍNDICE

RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
CAPÍTULO 1: The chloroplast genome of <i>Utricularia reniformis</i> sheds light on the evolution of the <i>ndh</i> gene complex of terrestrial carnivorous plants from the Lentibulariaceae family	33
1.1 Abstract	33
1.2 Introduction	34
1.3 Material and Methods	36
1.4 Results	42
1.5 Discussion	67
1.6 References	72
1.7 Supporting information	78
CAPÍTULO 2: The complete chloroplast genome sequence of the leafy bladderwort, <i>Utricularia foliosa</i> (Lentibulariaceae)	84
2.1 Abstract	84
2.2 Introduction	85
2.3 Results and Discussion	86
2.4 References	91

CAPÍTULO 3: The mitochondrial genome of the terrestrial carnivorous plant <i>Utricularia reniformis</i> (Lentibulariaceae): Structure, comparative analysis and evolutionary landmarks	94
3.1 Abstract	96
3.2 Introduction	98
3.3 Material and Methods	100
3.4 Results	106
3.5 Discussion	130
3.6 Conclusion	135
3.7 References	136
3.8 Supplementary information	145
CAPÍTULO 4: Comparative genomic analysis of <i>Genlisea</i> (corkscrew plants - Lentibulariaceae) chloroplast genomes reveals and increasing loss of the <i>ndh</i> genes... ..	151
4.1 Abstract	153
4.2 Introduction	154
4.3 Material and Methods	156
4.4 Results	160
4.5 Discussion	171
4.6 Conclusions	178
4.7 References	179
4.8 Supplementary information	190



CONCLUSÕES FINAIS 196

SILVA, S.R. **GENÔMICA ORGANELAR E EVOLUÇÃO DE GENLISEA E UTRICULARIA (LENTIBULARIACEAE)** 2018. 397P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - *Utricularia* e *Genlisea* são gêneros irmãos de plantas carnívoras da família Lentibulariaceae. Possuem aproximadamente 260 espécies representadas em diversas formas de vida. Para o Brasil foram catalogadas 82 espécies, das quais 27 são consideradas endêmicas. Além de dispor das armadilhas carnívoras mais complexas entre plantas, algumas de suas espécies apresentam os menores genomas e as maiores taxas de mutações entre as angiospermas relatadas até o momento. A respeito de seus genomas organelares, os estudos são pífios. Neste contexto, há a necessidade de se investigar como são os genomas organelares, suas estruturas, seus genes e como se deu a evolução das organelas nos gêneros. Portanto este estudo teve como objetivo, a partir de sequenciamento de nova geração e montagem de genomas, estudar e comparar os genomas organelares de *Utricularia* e *Genlisea*. Neste âmbito, foram montados e sequenciados os cloroplastos das espécies *Utricularia foliosa*, *U. reniformis*, *G. aurea*, *G. filiformis*, *G. pygmaea*, *G. repens* e *G. tuberosa*, e o genoma mitocondrial de *U. reniformis*. Os resultados obtidos revelaram que possivelmente há relação entre forma de vida e presença de genes *ndhs* nos gêneros, em razão de que para as espécies terrestres há deleção e “pseudogenização” de genes *ndhs*, já as espécies aquáticas detêm todo repertório de *ndhs* intacto. A partir das evidências encontradas, foi possível constatar transferência horizontal de genes, inclusive de genes *ndhs*, em mitocôndrias.

Palavras-chave: Lentibulariaceae, genômica organelar, filogenômica, *Utricularia*, *Genlisea*

ABSTRACT – *Utricularia* and *Genlisea* are sister genera in the carnivorous family Lentibulariaceae. There are approximately 260 species representing diverse life forms. For Brasil there are 82 species, 27 considered endemic. At the moment, besides having the most complex carnivorous traps between all plants, some of its species have miniature genomes and the highest mutational rates among angiosperms. There are few studies regarding its organellar genome. In this context, it is necessary to investigate how are these organellar genomes, its structure, genes, and how evolutionary forces govern these organelles in the different genera. Therefore, the aim of this study is to study and compare the organellar genomes of *Utricularia* and *Genlisea*, using next generation sequencing and genome assembly. In this context, chloroplasts of the species *Utricularia foliosa*, *U. reniformis*, *Genlisea aurea*, *G. filiformis*, *G. pygmaea*, *G. repens* and *G. tuberosa*, and the mitochondrial genome of *U. reniformis* were assembled and sequenced. The results show that possibly there is a connection between life form and the presence of *ndhs* genes in the genera, since for the terrestrial species there are *ndhs* genes that are deleted and pseudogenization, in contrary to the aquatic species which have all intact *ndhs* repertoire. Concerning the evidences, it was possible to verify horizontal transfer of *ndhs* and other genes as there are chloroplasts genes in the mitochondria.

Keywords: Lentibulariaceae, organellar genomics, phylogenomic, *Utricularia*, *Genlisea*.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Plantas carnívoras

As plantas carnívoras são plantas ímpares, que por meio de modificações foliares, produção de substâncias diversas e complexos mecanismos de captura podem usufruir de artrópodes e outros pequenos animais para a manutenção do seu próprio desenvolvimento.

Para uma planta ser considerada carnívora é necessário que esta possua um conjunto de características designadas como "síndrome de carnivoría" (Givnish et al., 1984), que compreende plantas com a capacidade de atrair, capturar, digerir e absorver nutrientes que provêm de presas. Dentro desse contexto, há cerca de 600 espécies de plantas carnívoras, distribuídas em 20 gêneros, 12 famílias em 5 ordens distintas (Givnish, 2015). Dentre elas, são conhecidas como "snap traps" as espécies dos gêneros *Aldrovandra* e *Dionaea* (Figura 1A); "pitcher plants" as de *Broccchinia*, *Catopsis*, *Cephalotus*, *Darlingtonia*, *Heliophora*, *Nepenthes* (Figura 1B) e *Sarracenia*; "papel pega-moscas" as de *Drosera* (Figura 1C), *Drosophyllum*, *Pinguicula*, *Roridula*, *Philcoxia*, *Byblis* e *Triphyophyllum* e as "corckscrew plants" e "bladderworts" que são as *Genlisea* e *Utricularia*, respectivamente (Givnish, 2015; McPherson, 2010).

Apesar de a carnivoría ser comum entre esses grupos, sabe-se pelas histórias filogenéticas que essa síndrome surgiu em, pelo menos, cinco ordens na história evolutiva das angiospermas (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016). Em face disso, houve clara convergência adaptativa para a carnivoría.

O interesse por estas plantas peculiares se reflete por uma vasta literatura popular e principalmente científica, sobre morfologia e funcionamento das armadilhas (e.g. Alcalá, et al.,

2010; Cameron et al., 2002; Reifenrath et al., 2006; Westermeier et al., 2017), produção de enzimas digestivas (e.g. Morohoshi et al., 2011; Plachno et al., 2006), atração de presas (e.g. Bennett & Ellison, 2009; Plachno et al., 2008; Plachno et al., 2007) e espectro de presas capturadas (e.g. Bauer et al., 2009; Peroutka et al., 2008; Sanabria-Aranda et al., 2006), assim como aspectos da evolução da carnivoría em angiospermas (Givnish, 2015; Jobson et al., 2004; Müller et al., 2004) e sua ecologia e relação com ambientes pobres em nutrientes (Ellison & Adamec, 2011; Pavlovič & Saganová, 2015).



Figura 1. A. Armadilhas de *Dionaea* do tipo "snap-traps"; B. "pitcher plants" de *Nepenthes*; C. "Papel pega-moscas" de espécies do gênero *Drosera* (Fonte: <https://www.mnn.com/your-home/organic-farming-gardening>).

2. Família Lentibulariaceae

A carnivoría em Lamiales surge pela presença de tricomas glandulares, presentes em quase todos os membros da família, que teve função alterada da secreção de substâncias para também absorvê-las (Müller et al., 2004). Lentibulariaceae, que pertence a esta ordem (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016), é a maior entre as famílias de plantas carnívoras, compreendendo cerca de 360 espécies em três gêneros: *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil. e *Utricularia* L. (Casper, 1966; Fromm-Trinta, 1981; Givnish, 2015; Taylor, 1989).

Estudos filogenéticos feitos a partir de caracteres morfológicos e moleculares indicam a monofilia da família Lentibulariaceae (Jobson & Albert, 2002; Jobson et al., 2003; Müller et al., 2004; Müller & Borsch, 2005; Silva et al., 2018) e posicionam o gênero *Pinguicula* como grupo irmão do clado *Genlisea-Utricularia*. Evidências apontam que os ancestrais de *Genlisea-Utricularia* detinham as folhas rosetadas de *Pinguicula* que sofreram o processo de epiascidiase (Juniper et al., 1989) dando origem às folhas em forma de “Y” invertido em *Genlisea* e às pequenas vesículas em *Utricularia*. Já o ancestral de Lentibulariaceae possuía raízes primárias que, após o processo de germinação, provavelmente eram reduzidas. Enquanto que em *Pinguicula* as raízes foram mantidas, no ancestral de *Genlisea* e *Utricularia* esses órgãos foram totalmente perdidos e a suas funções foram atribuídas às armadilhas e ao estolão (Müller et al., 2004).

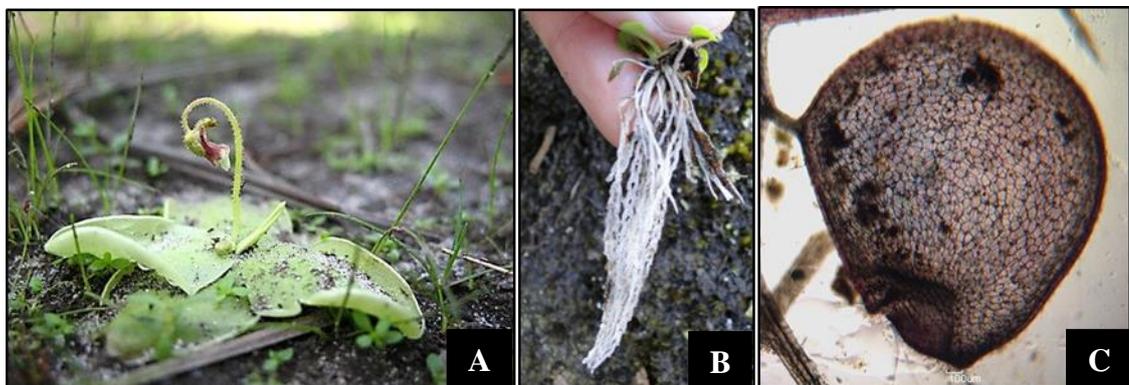


Figura 2. Tipos de armadilhas na família Lentibulariaceae **A.** *Pinguicula albida* C.Wright ex Griseb., de armadilhas pegajosas como “papel pega-moscas”; **B.** *Genlisea violacea* A.St.-Hil., com armadilhas na forma de “Y” invertido; **C.** *Utricularia foliosa* L., pequenas vesículas chamadas de “utrículos” (Fotos de nosso grupo – LSV/FCAV/UNESP.)

3. Os gêneros: *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil. e *Utricularia* L.

As espécies de *Pinguicula* L., também chamadas de “butterworts”, são pequenas plantas herbáceas (de 1 cm a aproximadamente 30 cm de diâmetro) perenes ou raramente anuais de

folhas em forma de rosetas que funcionam como “papel pega-moscas” similares aos dos gêneros de plantas carnívoras *Drosera* e *Byblis*. Entretanto, no que concerne a filogenia do gênero, outros aspectos sugerem *Pinguicula* como origem ancestral com clado irmão *Utricularia-Genlisea* se considerarmos a natureza fisiológica de seus tricomas glandulares, simetria zigomorfa das flores, anatomia do cálice, e filogenia baseada em diversos caracteres moleculares (Legendre, 2000).

Há aproximadamente 100 espécies de *Pinguicula* que podem variar na cor e forma das flores e folhas (Givnish, 2015; McPherson, 2010; Figura 3). É interessante ressaltar que, entre os gêneros da família a qual pertence, é o menos estudado e, assim, há diversas dúvidas sobre a circunscrição taxonômica de várias espécies. O gênero é informalmente dividido em três grupos de acordo com o tipo de desenvolvimento foliar e *habitat*: heterófilas de ambientes temperados (~26 spp.), heterófilas de ambiente tropical (~41 spp.) e as homófilas (~34 spp.). Tem distribuição principalmente no Hemisfério Norte, contudo há espécies que colonizam alguns países da América Central, Caribe e México (Casper, 1966; Legendre, 2000; McPherson, 2010).



Figura 3. **A.** *Pinguicula filifolia* C.Wright ex Griseb. **B.** *Pinguicula cubensis* Urquiola & Casper **C.** *Pinguicula lignicola* Barnh. (Fotos de nosso grupo – LSV/FCAV/UNESP.)

O gênero *Genlisea* A.St.-Hil., das chamadas de “corckscrew plants”, compreende cerca de 30 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, Central, regiões do continente africano e em Madagascar (Fleischmann, 2012). De acordo com classificação em subgênero, as espécies do subgênero *Genlisea* possuem fruto com deiscência circuncisa, enquanto que as do subgênero *Tayloria* (Fromm-Trinta, 1981) têm deiscência espiralada. A maioria das espécies se concentra principalmente no Brasil, principalmente do subgênero *Tayloria*, com cerca de 17 espécies, sendo que 10 são endêmicas (Miranda et al., 2018).

São ervas rosetadas, de flores zigomorfas, similares às de *Utricularia*, podendo ser facilmente confundidas (Figura 4A), exceto por seu cálice pentâmero. São terrestres, heterófilas, que têm lâminas foliares conspícuas, achatadas e fotossintetizantes de superfície do solo e folhas subterrâneas modificadas para a captura de presas, ancoragem e adesão ao subsolo (Figura 2B). Estas estruturas têm forma de “Y” invertido e geralmente se dispõem de maneira alternada às folhas fotossintetizantes (Figura 4B). Cada armadilha possui estruturas chamadas de “braços” que se organizam como fitas helicoidais torcidas, com fendas (Figura 4D e 4E). Dentro da armadilha, principalmente na região das fendas, há tricomas direcionados para o interior da estrutura e em direção a uma região intumescida chamada de “ampola” (Figura 4C) criando, assim, barreira física em que a presa consegue facilmente entrar na armadilha, mas não consegue sair. A ampola é uma cavidade para a digestão de presas, onde são secretadas enzimas para degradação e absorção de nutrientes provenientes das presas (Fleischmann, 2012).

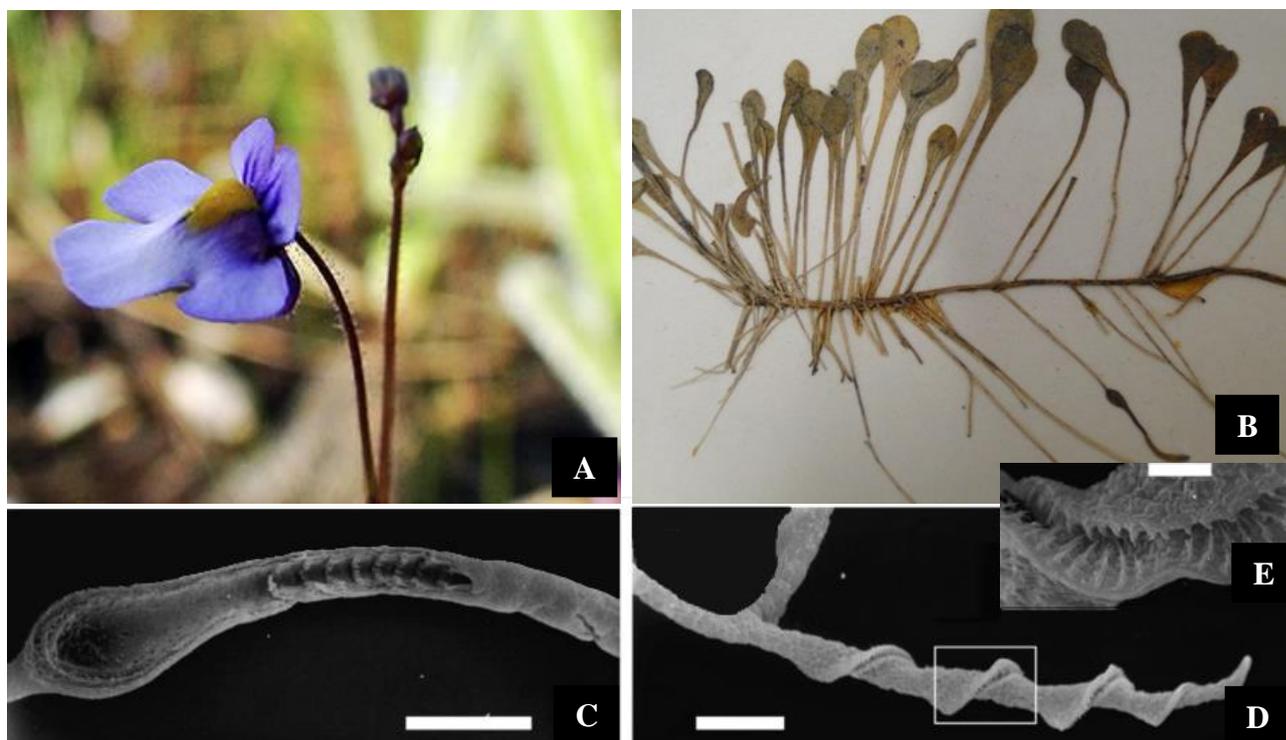
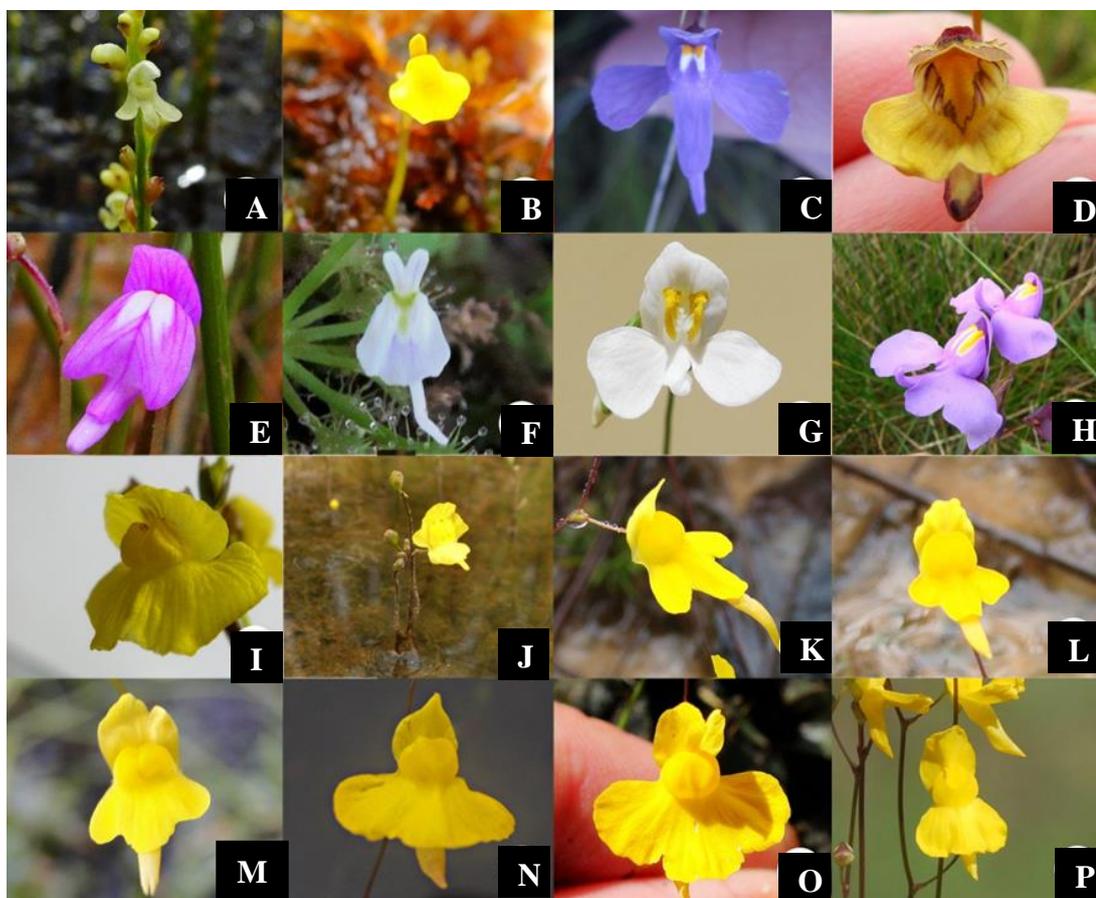


Figura 4. A. Flor de *Genlisea violacea*. B. Exsicata de folhas de *Genlisea repens*. C. Região da “ampola” de *Genlisea*. D. Região dos braços helicoidais, a figura E. Mostra detalhe dos tricomas nas fendas da armadilha. (Fonte: Foto A e B do nosso grupo de pesquisa; C, D e E retiradas de Rutishauser, 2016.)

O gênero *Utricularia* L., ou “bladderworts”, possui aproximadamente 250 espécies representadas em diversas formas de vida: terrícolas, aquáticas livres, aquáticas afixadas, reofíticas, epifíticas e litofíticas (Figura 5; Guisande *et al.*, 2004; Taylor, 1989). Para o Brasil foram catalogadas 65 espécies, das quais 16 são consideradas endêmicas (Miranda *et al.*, 2018).

De acordo com a proposta taxonômica de Taylor (1989), o gênero *Utricularia* está subdividido em dois subgêneros: *Polypompholyx* (Lehm.) P.Taylor (com duas seções) e *Utricularia* (com 33 seções). Para o tratamento, o autor se baseou principalmente na morfologia vegetativa e relacionada ao cálice e corola, tendo sido criadas para alguns casos seções monotípicas devido à existência de espécies muito distintas. Já outros grupos, como a seção

Utricularia, foram arranjados principalmente pelo padrão morfológico do utrículo e pela forma de vida aquática. O gênero também apresenta diverso polimorfismo estrutural intra e interespecífico, e espécies bastante similares morfológicamente, sendo muitas vezes erroneamente identificadas mesmo por especialistas. Estudos filogenéticos, feitos a partir de sequências de DNA indicam que as relações propostas por Taylor (1989) são bastante curadas. Contudo, há classificações infragenéricas que necessitam revisão taxonômica.



Figuras 5. Espécies do gênero *Utricularia*. **A.** *Utricularia neottioides* A.St.-Hil. & Girard; **B.** *U. nana* A.St.-Hil. & Girard; **C.** *U. amethystina* Salzm. ex A.St.-Hil. & Girard; **D.** *U. hispida* Lam.; **E.** *U. cucullata* A.St.-Hil. & Girard; **F.** *U. sandersonii* Oliver; **G.** *U. nephrophylla* Benj.; **H.** *U. reniformis* A.St.-Hil.; **I.** *U. foliosa* L.; **J.** *U. gibba* L.; **K.** *U. nigrescens* Sylvén; **L.** *U. pusilla* Vahl; **M.** *U. flaccida* A.DC.; **N.** *U. triloba* Benj.; **O.** *U. subulata* L.; **P.** *U. nervosa* G.Weber ex Benj. (Fotos de nosso grupo – LSV/FCAV/UNESP.)

Dentro desse contexto, há seções, como *Psyllosperma-Foliosa* e *Iperua-Orchidioides* que, por filogenia molecular, indicam parafilia entre elas. Assim, se faz necessária a investigação filogenética para determinar se as espécies devem ser incluídas em uma única seção, que de acordo com o código de nomenclatura botânica deve ser o nome mais antigo, ou desmembrá-la e realizar um rearranjo de espécies para respeitar a monofilia das seções.

Existe ainda a questão taxonômica de determinadas espécies estarem arranjadas de forma duvidosa na classificação infragênérica, como o caso das espécies *Utricularia olivacea* e *U. flaccida*, que, de acordo com evidências encontradas em estudos baseados em DNA (Muller et al., 2004; Silva et al., 2018), ocasionam a parafilia das seções nas quais são arranjadas (Taylor, 1989) (Figura 6).

4. Genômica em Lentibulariaceae

As Lentibulariaceae têm sido consideradas plantas modelo não somente para se estudarem os processos biológicos relacionados à carnivoría, mas também para investigar processos que envolvem a expansão e contração genômica (Albert et al., 2010). Apresentam espécies com os menores genomas conhecidos (Leushkin et al., 2013), sendo *Utricularia gibba* a menor angiosperma com genoma sequenciado (Ibarra-Laclette et al., 2013; Lan et al., 2017), menor do que o da planta-modelo *Arabidopsis thaliana* (135 - 157 Mb) (Bennett & Leitch, 2005).

Se por um lado o genoma de *Utricularia gibba* é pequeno, por outro lado detém todo repertório gênico de plantas. Assim, a miniaturização do genoma pode ser atribuída à contração de sequências intergênicas e à presença de poucos elementos repetitivos. Enquanto que, para angiospermas, a quantidade de elementos repetitivos fica por volta de 10-60%, para *U. gibba* é

de somente 3%. Outro fator relevante é a pouca quantidade de elementos de transposição (cerca de 569). Dentro desse contexto, os retroelementos são raros e somam somente cerca de 2,5% do genoma. Tais considerações apontam que na espécie decorreram vários eventos de duplicação gênica (WGD) seguidos de fragmentação (Ibarra-Laclette et al., 2013). Ao mesmo tempo, foi relatado que *Utricularia* e *Genlisea* apresentam alta taxa evolutiva molecular, que pode estar relacionada a uma seleção positiva (Jobson et al., 2003; Wicke et al., 2014). Baseado no tamanho do genoma reduzido, a variabilidade cromossômica e na alta taxa de evolução de nucleotídeos, recentemente foi proposto que *Utricularia* tem mecanismos ativos para remover as regiões do DNA que são danificadas devido às espécies reativas de oxigênio (ROS) causadas pela carnivoría (Albert et al., 2010).

A partir de uma perspectiva filogenética, a expansão e contração genômica ocorreu em diversas linhagens de Lentibulariaceae. O ancestral hipotético do grupo têm genoma estimado de 414Mb (Veleba et al., 2014), um genoma pequeno se considerados os genomas de espécies de Lamiales. A partir dessa perspectiva, o gênero *Pinguicula* possui genomas que estão em discreta expansão genômica. Enquanto *Utricularia* e *Genlisea* sofreram drástica miniaturização independente nos clados da *U.* sect. *Foliosa*, sect. *Vesiculina*, sect. *Utricularia*, *G.* sect. *Genlisea* e sect. *Recurvatae* (Figura 7).

Diante do exposto, aliado ao fato de serem plantas no geral de pequeno porte e de fácil cultivo, fica evidente que *Utricularia* pode servir como modelo importante para compreender a estrutura e a evolução dos genomas de plantas, principalmente das angiospermas.

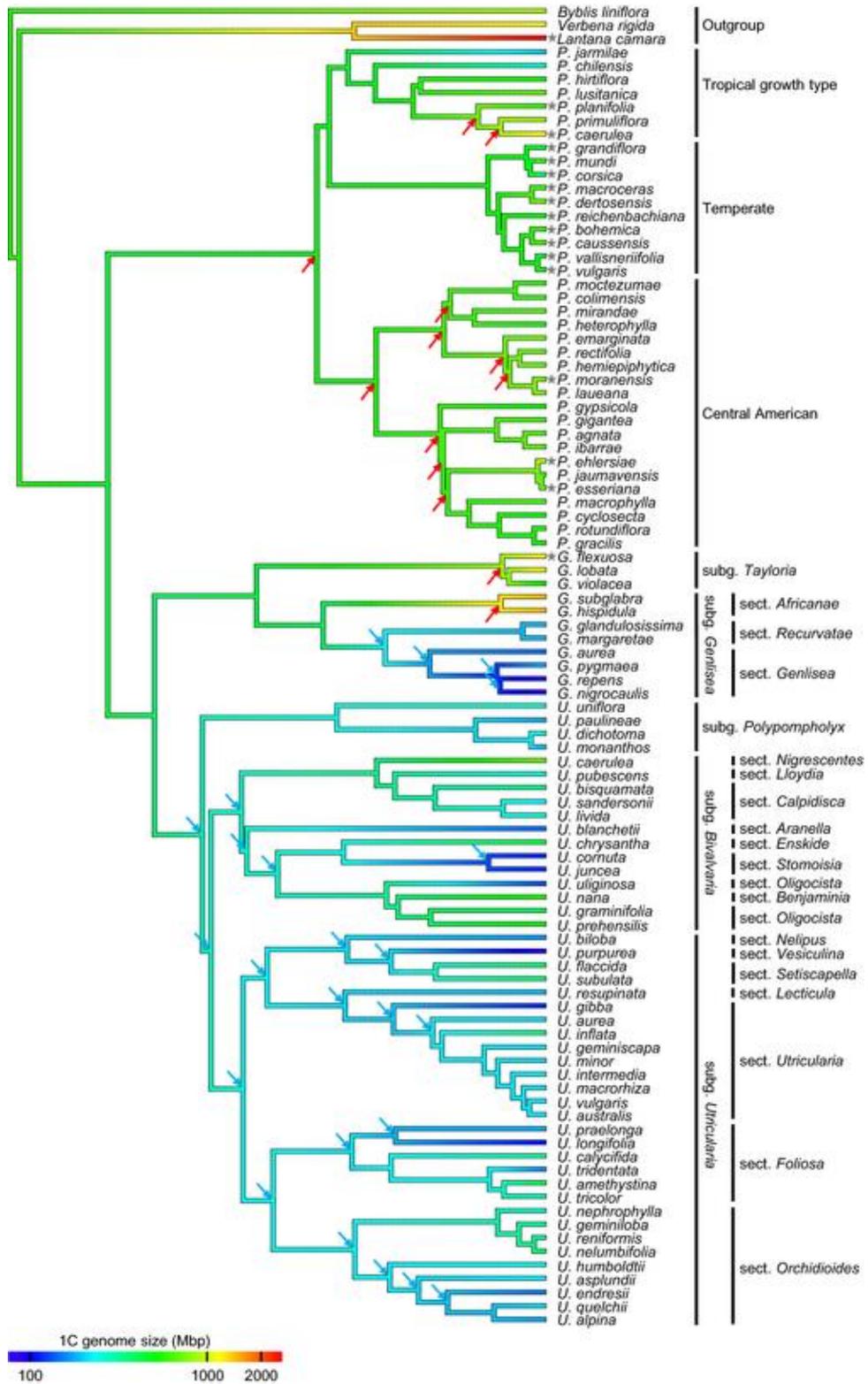


Figura 7. Reconstrução ancestral (“character tracing”) do tamanho dos genomas de Lentibulariaceae. As setas azuis denotam miniaturização de genomas e setas vermelhas a expansão. Espécies em que possivelmente ocorreu poliploidia recente estão marcadas por estrelas cinzas (Imagem retirada de Veleba et al., 2014).

5. Organelas

A análise de genomas de cloroplastos e mitocôndrias é valiosa fonte de informações para reconstrução da história evolutiva de plantas. Tem sido usada em numerosos estudos de filogenia em diversos níveis taxonômicos e identificação de plantas. Vale ressaltar ainda que as informações genéticas podem ser usadas como caracteres em nível de nucleotídeos como na forma de caracteres discretos, ou seja, codificando em matrizes a estrutura do genoma, por exemplo, em presença e ausência de genes, e acrescentar a informação para aumentar a robustez das análises filogenéticas.

Nos últimos anos, o sequenciamento de organelas tem se tornado comum, principalmente devido o maior acesso e barateamento dos custos de sequenciamento de nova geração (Straub et al., 2012). De acordo com a base de dados “Organelle Genome Resources” (Wolfsberg et al, 2001) disponível no sítio do NCBI (“National Center for Biotechnology Information”), há 1.805 genomas cloroplastidiais e 223 genomas mitocondriais.

Os métodos principais para obtenção de genomas de organelas incluem: (1) isolamento de organelas por meio de métodos, como gradiente de Percoll (e.g. Dong et al., 2013; Figura 8A e 8B); e a (2) separação de organelas e núcleo *in silico* (e.g. Wang & Messing, 2011; Figura 9). O isolamento de organelas geralmente tem como quesito, grandes quantidades de tecido vegetal que geralmente não estão disponíveis para todas as amostras. Outro aspecto a ser levado em conta é o isolamento de organelas de plantas pequenas, as quais seriam necessários vários indivíduos para fazê-lo, porém, esse processo aumenta as chances de se obterem montagens



erradas, principalmente se considerado processos de transferência horizontal de genes e heteroplasma. Em face disso, o método mais comumente empregado é a separação por métodos *in silico* (Garaycochea et al., 2015).

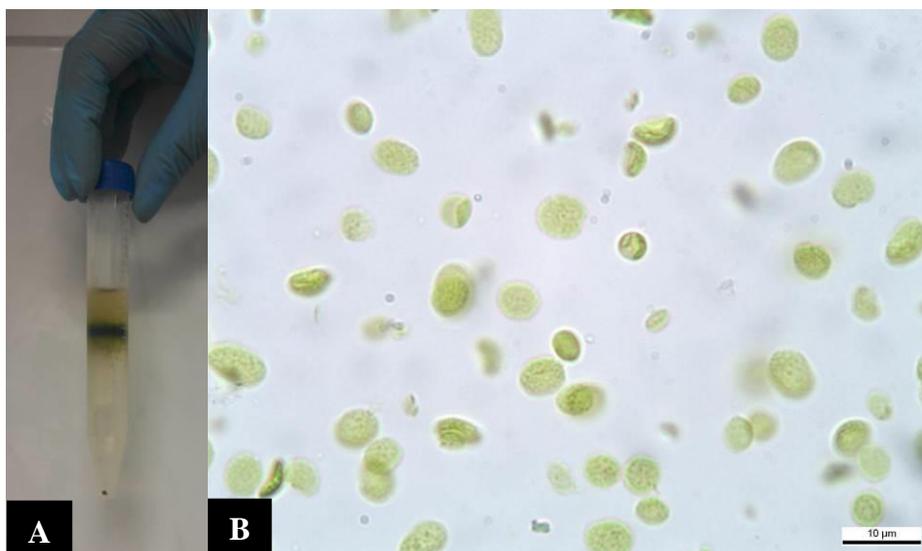


Figura 8. A. Separação de cloroplastos por meio de gradiente de Percoll da espécie *Utricularia foliosa*; B. Imagem de microscópio de luz de cloroplastos isolados de *U. foliosa*.

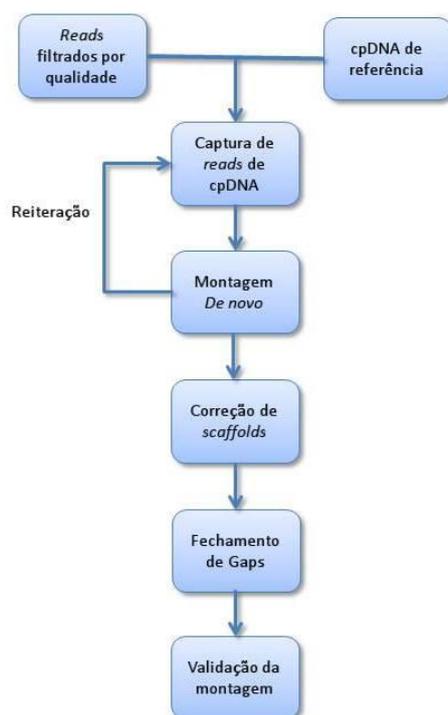


Figura 9. Exemplo de *pipeline* para a montagem de cloroplastos a partir do sequenciamento de DNA total amostra de Lemnoideae (Wang & Messing, 2011).

Os genomas cloroplastidiais são facilmente montados, pois são bastante conservados entre grupos, além disso, são haploides e de herança uniparental. Outro fator relevante é o elevado número de cópias do genoma por célula, que facilita a sua obtenção mesmo a partir de sequenciamento de baixa profundidade. Por outro lado, os genomas mitocondriais podem ser extremamente complexos, mesmo em espécies de relacionamento filogenético próximo, pois sofrem constantes eventos de recombinações devido a repetições em seu mtDNA (Sloan, 2013; Figura 10A), além de apresentarem elementos de transposição e transferência horizontal de genes entre o núcleo e cpDNA (Leister, 2005; Figura 10B).

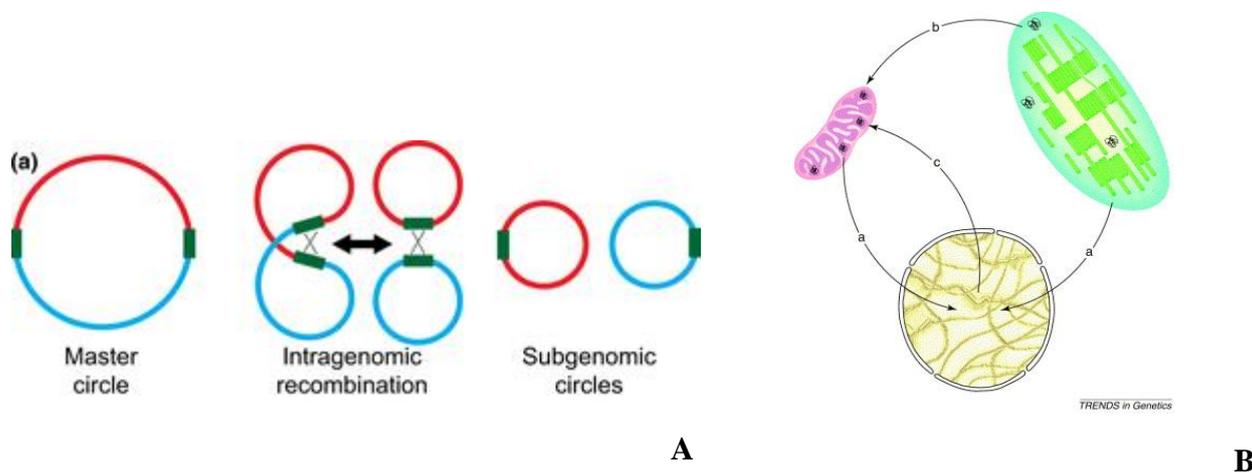


Figura 10. **A.** Representação das recombinações dos mtDNAs em plantas e formação de subcírculos genômicos (Sloan, 2013). **B.** Representação de transferência horizontal entre genes. (a) Organela para núcleo; (b) cloroplastos para mitocôndria; (c) Núcleo para mitocôndria. (Leister, 2005)

5.1 Organelas em Lentibulariaceae

Até a execução do presente trabalho, poucos estudos haviam sido feitos para investigar as características presentes nas organelas de Lentibulariaceae. Ibarra-Laclette et al. (2013) realizou o primeiro estudo de sequenciamento e montagem de genomas da espécie *Utricularia gibba*. Entretanto, o objetivo principal era a montagem do genoma nuclear, assim, somente com

Wicke *et al.* (2014) que foram realizadas as primeiras análises com organelas de Lentibulariaceae, nos quais foram sequenciados plastomas de três espécies dos três gêneros da família: *Pinguicula ehlersiae*, *U. macrorrhiza* e *Genlisea margaretae*.

Os cpDNAs de Lentibulariaceae detêm estrutura quadripartida típica, como ocorre para a maioria das angiospermas: duas regiões com genes repetidos, sendo um invertido ao outro (*Inverted Repeats*; IRs) separados por uma região grande de cópia única (*Large Single Copy*; LSC) e outra região pequena de cópia única (*Small Single Copy*; SSC) (Wicke *et al.*, 2014).

Uma das características genômicas que mais receberam ênfase no trabalho, foi a deleção em *Genlisea* e *Pinguicula* de alguns genes NAD(P)H desidrogenase que não possui função exata reconhecida, contudo, é sabido que é responsável por auxiliar a fotossíntese principalmente sob condições de pouca luz e baixa concentração de CO₂ (Wicke *et al.*, 2014). De acordo com os autores, a perda desses genes em *Genlisea* e *Pinguicula* ocorreu em dois eventos independentes na história evolutiva da família Lentibulariaceae, já que na espécie de *Utricularia* analisada não há evidência de deleção ou pseudogenes. Contudo, apesar da relação entre a deleção de genes NAD(P)H e a hipótese filogenética estabelecida por Wicke *et al.* (2014), sabe-se que *Utricularia macrorrhiza* é espécie que pertence a grupo filogeneticamente recente segundo a história contada por diversos estudos (Jobson *et al.* 2003; Müller e Borsch 2005; 2006; Silva *et al.* 2018).

Considerando tais colocações, são necessários novos estudos a fim de descobrir novas evidências sobre como se deu a evolução dos genomas organelares tanto em relação à família quanto ao gênero, visto que a presença dos genes NAD(P)H pode ser uma condição derivada no gênero *Utricularia* e que o ancestral comum entre *Genlisea* e *Utricularia*, assim como para

espécies mais distantes filogeneticamente, podem revelar a deleção de genes NAD(P)H como em *Genlisea margaretae*.

Vale ressaltar ainda que, até o presente trabalho, somente havia em banco de dados públicos o mtDNA parcial (*draft*) de *Utricularia gibba*. Em razão desta realidade, a presente tese propõe a primeira montagem e análise comparativa de organelas de Lentibulariaceae.

8. Objetivos gerais

O objetivo foi investigar o genoma organelar de espécies de Lentibulariaceae para avaliar a estrutura das organelas e potencial para a filogenia das espécies.

8.1 Objetivos específicos

O capítulo 1 intitulado “The chloroplast genome of *Utricularia reniformis* sheds light on the evolution of the *ndh* gene complex of terrestrial carnivorous plants from the Lentibulariaceae family” teve como objetivo a montagem e análise de cloroplastos de *Utricularia reniformis* para propor hipóteses para a pseudogenização e deleção de genes *ndhs*.

O capítulo 2 intitulado “The complete chloroplast genome sequence of the leafy bladderwort, *Utricularia foliosa* L. (Lentibulariaceae) está apresentado aqui como um “Technical Note”, como fora concebido, portanto o trabalho teve como objetivo descrever o cloroplasto de *Utricularia foliosa* e apresentar filogenia para verificar a posição da espécie dentro do contexto filogenômico de cpDNAs de Lentibulariaceae.

O capítulo 3 intitulado “The mitochondrial genome of the terrestrial carnivorous plant *Utricularia reniformis* (Lentibulariaceae): Structure, comparative analysis and evolutionary landmarks” teve como objetivo investigar os genes e estrutura mitocondrial a partir da primeira montagem de genoma mitocondrial feita para a planta carnívora do gênero *Utricularia*.

O capítulo 4 intitulado “Comparative genomic analysis of *Genlisea* (corkscrew plants – Lentibulariaceae) chloroplast genomes reveals an increasing loss of the *ndh* genes” teve



como objetivo descrição detalhada e sob um contexto evolutivo propor hipóteses para a fragmentação, pseudogenização e deleção de genes *ndhs* dentro do gênero *Genlisea*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, V. A., JOBSON, R. W., MICHAEL, T. P., & TAYLOR, D. J. The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): a system inflates. **Journal of Experimental Botany**, 61(1), 5–9, 2010. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp349>
- ALCALÁ, R. E., MARIANO, N. A., OSUNA, F., & ABARCA, C. A. An experimental test of the defensive role of sticky traps in the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). **Oikos**, 119(5), 891–895, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.18110.x>
- BAUER, U., WILLMES, C., & FEDERLE, W. Effect of pitcher age on trapping efficiency and natural prey capture in carnivorous *Nepenthes rafflesiana* plants. **Annals of Botany**, 103(8), 1219–1226, 2009. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp065>
- BENNETT, K. F., & ELLISON, A. M. Nectar, not colour, may lure insects to their death. **Biology Letters**, 5(4), 469–472, 2009. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0161>
- BENNETT, M. D., & LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems and prospects. **Annals of Botany**, 95(1), 45–90, 2005. <https://doi.org/10.1093/aob/mci003>
- CAMERON, K. M., WURDACK, K. J., & JOBSON, R. W. Molecular evidence for the common origin of snap-traps among carnivorous plants. **American Journal of Botany**, 89(9), 1503–1509, 2002. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.9.1503>
- CASPER, S. J. Monographie der Gattung *Pinguicula* L. **Bibl. Bot.**, 127/128, 1–209, 1966.
- DONG W, XU C, LI C, SU J, ZUO Y, SHI S, et al. *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. **Scientific Reports** 2015:1–5, 2015. doi:10.1038/srep08348
- ELLISON, A. M., & ADAMEC, L. Ecophysiological traits of terrestrial and aquatic carnivorous plants: are the costs and benefits the same? **Oikos**, 120(11), 1721–1731, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19604.x>

- FLEISCHMANN, A. **A Monograph of the Genus *Genlisea***. Dorset: Redfern Natural History Productions Ltd, 2012.
- FROMM-TRINTA, E. Revisão do gênero *Genlisea* St.- Hil. no Brasil. **Boletim do Museu Nacional**, (61), 1–29, 1981.
- GARAYCOCHEA, S., SPERANZA, P., & ALVAREZ-VALIN, F. A strategy to recover a high-quality, complete plastid sequence from low-coverage whole-genome sequencing. **Applications in Plant Sciences**, 3(10), 2015. <https://doi.org/10.3732/apps.1500022>
- GIVNISH, T. J. New evidence on the origin of carnivorous plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 112(1), 10–11, 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422278112>
- GIVNISH, T. J., BURKHARDT, E. L., HAPPEL, R. E., & WEINTRAUB, J. D. Carnivory in the Bromeliad *Brocchinia reducta*, with a Cost/Benefit Model for the General Restriction of Carnivorous Plants to Sunny, Moist, Nutrient-Poor Habitats. **The American Naturalist**, 124(4), 479–497, 1984.
- GUISANDE, C., LORENCIO, C. G., SOSSA, C. E. A., & ESCOBAR, S. R. D. Bladderworts. **Functional Plant Science and Biotechnology**, 1, 58–68, 2004.
- IBARRA-LACLETTE, E., LYONS, E., HERNÁNDEZ-GUZMÁN, G., PÉREZ-TORRES, C. A., CARRETERO-PAULET, L., CHANG, T.-H., et al. HERRERA-ESTRELLA, L. Architecture and evolution of a minute plant genome. **Nature**, 498(7452), 94–98. <https://doi.org/10.1038/nature12132>, 2013.
- JOBSON, R. W., & ALBERT, V. A. Molecular Rates Parallel Diversification Contrasts between Carnivorous Plant Sister Lineages. **Cladistics**, 18(2), 127–136, 2002. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2002.tb00145.x>
- JOBSON, R. W., NIELSEN, R., LAAKKONEN, L., WIKSTRÖM, M., & ALBERT, V. A. Adaptive evolution of cytochrome c oxidase: Infrastructure for a carnivorous plant radiation.

- Proceedings of the National Academy of Sciences**, 101(52), 18064–18068, 2004.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0408092101>
- JOBSON, R. W., PLAYFORD, J., CAMERON, K. M., & ALBERT, V. A. Molecular Phylogenetics of Lentibulariaceae Inferred from Plastid rps16 Intron and *trnL-F* DNA Sequences: Implications for Character Evolution and Biogeography. **Systematic Botany**, 28(1), 157–171, 2003. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-28.1.157>
- JUNIPER B, ROBINS R, JOEL D. **The Carnivorous Plants**. Academic Press, London; 1989.
- LAN, T., RENNER, T., IBARRA-LACLETTE, E., FARR, K. M., CHANG, T.-H., CERVANTES-PÉREZ, S. A., ALBERT, V. A. Long-read sequencing uncovers the adaptive topography of a carnivorous plant genome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 114(22), E4435–E4441, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1702072114>
- LAN, T.; RENNER, T.; IBARRA-LACLETTE, E.; FARR, K. M.; CHANG, T-H; CERVANTES-PÉREZ, S.A.; et al. Long-read sequencing uncovers the adaptive topography of a carnivorous plant genome. **Proc Natl Acad Sci**. 201702072, 2017. doi:10.1073/pnas.1702072114
- LEGENDRE, L. The genus *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae): an overview. **Acta Botanica Gallica**, 147(1), 77–95, 2000. <https://doi.org/10.1080/12538078.2000.10515837>
- LEISTER, D. Origin, evolution and genetic effects of nuclear insertions of organelle DNA. **Trends in Genetics**, 21(12), 655–663, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2005.09.004>
- LEUSHKIN, E. V., SUTORMIN, R. A., NABIEVA, E. R., PENIN, A. A., KONDRASHOV, A. S., & LOGACHEVA, M. D. The miniature genome of a carnivorous plant *Genlisea aurea* contains a low number of genes and short non-coding sequences. **BMC Genomics**, 14(1), 476, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-476>

MCPHERSON, S. **Carnivorous Plants and Their Habitats: Volume Two.** (A. Fleischmann & A. Robinson, Orgs.). Poole: Redfern Natural History Productions Ltd. 2010.

MIRANDA, V.F.O.; MENEZES, C.G.; SILVA, S.R.; DÍAZ, Y.C.A.; RIVADAVIA, F. Lentibulariaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jard. Botânico do Rio Janeiro 12 Jan 2018 Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB146>.

MOROHOSHI, T., OIKAWA, M., SATO, S., KIKUCHI, N., KATO, N., & IKEDA, T. Isolation and characterization of novel lipases from a metagenomic library of the microbial community in the pitcher fluid of the carnivorous plant *Nepenthes hybrida*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 112(4), 315–320, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.010>

MÜLLER, K., BORSCH, T., LEGENDRE, L., POREMBSKI, S., THEISEN, I., & BARTHLOTT, W. Evolution of Carnivory in Lentibulariaceae and the Lamiales. **Plant Biology**, 6(4), 477–490, 2004. <https://doi.org/10.1055/s-2004-817909>

MÜLLER, K. F., & BORSCH, T. Phylogenetics of *Utricularia* (Lentibulariaceae) and molecular evolution of the trnK intron in a lineage with high substitutional rates. **Plant Systematics and Evolution**, 250(1–2), 39–67, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00606-004-0224-1>

MÜLLER, K. F., BORSCH, T., LEGENDRE, L., POREMBSKI, S., & BARTHLOTT, W. Recent Progress in Understanding the Evolution of Carnivorous Lentibulariaceae (Lamiales). **Plant Biology**, 8(6), 748–757, 2006. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924706>

PAVLOVIČ, A., & SAGANOVÁ, M. A novel insight into the cost-benefit model for the evolution of botanical carnivory. **Annals of Botany**, 115(7), 1075–1092, 2015. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv050>

PEROUTKA, M., ADLASSNIG, W., VOLGGER, M., LENDL, T., URL, W. G., & LICHTSCHEIDL, I. K. *Utricularia*: a vegetarian carnivorous plant? **Plant Ecology**, 199(2), 153–162, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11258-008-9420-3>

- PLACHNO, B. J., ADAMEC, L., LICHTSCHEIDL, I. K., PEROUTKA, M., ADLASSNIG, W., & VRBA, J. Fluorescence labelling of phosphatase activity in digestive glands of carnivorous plants. **Plant Biology** (Stuttgart, Germany), 8(6), 813–820, 2006. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924177>
- PLACHNO, B. J., KOZIERADZKA-KISZKURNO, M., & ŚWIĄTEK, P. Functional Ultrastructure of *Genlisea* (Lentibulariaceae) Digestive Hairs. **Annals of Botany**, 100(2), 195–203, 2007. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm109>
- PLACHNO, B. J., KOZIERADZKA-KISZKURNO, M., SWIATEK, P., & DARNOWSKI, D. W. Prey attraction in carnivorous *Genlisea* [Lentibulariaceae]. **Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica**, 50(2), 87–94, 2008.
- REIFENRATH, K., THEISEN, I., SCHNITZLER, J., POREMBSKI, S., & BARTHLOTT, W. Trap architecture in carnivorous *Utricularia* (Lentibulariaceae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, 201(8), 597–605, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2005.12.004>,
- RUTISHAUSER, R. Evolution of unusual morphologies in Lentibulariaceae (bladderworts and allies) and Podostemaceae (river-weeds): a pictorial report at the interface of developmental biology and morphological diversification. **Annals of Botany** 117, 811–832, 2016.
- SANABRIA-ARANDA, L., GONZÁLEZ-BERMÚDEZ, A., TORRES, N. N., GUISANDE, C., MANJARRÉS-HERNÁNDEZ, A., VALOYES-VALOIS, V., DUQUE, S. R. Predation by the tropical plant *Utricularia foliosa*. **Freshwater Biology**, 51(11), 1999–2008, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01638.x>
- SILVA, S. R., GIBSON, R., ADAMEC, L., DOMÍNGUEZ, Y., & MIRANDA, V. F. O. Molecular phylogeny of bladderworts: A wide approach of *Utricularia* (Lentibulariaceae) species relationships based on six plastidial and nuclear DNA sequences. **Molecular**

Phylogenetics and Evolution, *118*, 244–264, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.10.010>

SLOAN, D. B. One ring to rule them all? Genome sequencing provides new insights into the ‘master circle’ model of plant mitochondrial DNA structure. **New Phytologist**, *200*(4), 978–985, 2013. <https://doi.org/10.1111/nph.12395>

STRAUB, S. C. K., PARKS, M., WEITEMIER, K., FISHBEIN, M., CRONN, R. C., & LISTON, A. Navigating the tip of the genomic iceberg: Next-generation sequencing for plant systematics. **American Journal of Botany**, *99*(2), 349–364, 2012. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100335>

TAYLOR, P. **The genus *Utricularia*: a taxonomic monograph**. London: Royal Botanic Gardens, 1989.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, *181*(1), 1–20, 2016. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>

VELEBA, A.; BUREŠ, P.; ADAMEC, L.; ŠMARDA, P.; LIPNEROVÁ, I.; HOROVÁ, L. Genome size and genomic GC content evolution in the miniature genome-sized family Lentibulariaceae. *New Phytol*, *203*: 22–28, 2004. doi:10.1111/nph.12790

WANG, W., & MESSING, J. High-Throughput Sequencing of Three Lemnoideae (Duckweeds) Chloroplast Genomes from Total DNA. **PLoS ONE**, *6*(9), e24670, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024670>

WESTERMEIER, A. S., FLEISCHMANN, A., MÜLLER, K., SCHÄFERHOFF, B., RUBACH, C., SPECK, T., & POPPINGA, S. Trap diversity and character evolution in carnivorous bladderworts (*Utricularia*, Lentibulariaceae). **Scientific Reports**, *7*(1), 12052, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12324-4>

WICKE, S., SCHÄFERHOFF, B., DEPAMPHILIS, C. W., & MÜLLER, K. F. Disproportional Plastome-Wide Increase of Substitution Rates and Relaxed Purifying

Selection in Genes of Carnivorous Lentibulariaceae. **Molecular Biology and Evolution**, 31(3), 529–545, 2014. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst261>

WOLFSBERG, T. G., SCHAFER, S., TATUSOV, R. L., & TATUSOVA, T. A. (2001). Organelle genome resources at NCBI. **Trends in Biochemical Sciences**, 26(3), 199–203, 2011. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(00\)01773-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01773-4)

CONCLUSÕES FINAIS

A partir da pesquisa proposta na presente tese foi possível obter cloroplastos das espécies: *Utricularia reniformis*, *U. foliosa*, *Genlisea repens*, *G. pygmaea*, *G. filiformis*, *G. aurea*, *G. tuberosa*. Para mitocôndrias, foi possível montar e descrever o primeiro mtDNA de *Utricularia*, da espécie *Utricularia reniformis*.

De acordo com as evidências é possível observar que os cloroplastos de ambos os gêneros possuem estrutura quadripartida típica. Entretanto há deleção, fragmentação e pseudogenização de genes *ndhs*, bem como estes genes *ndhs*, nos cloroplastos de *Utricularia* e *Genlisea*, possivelmente têm relação com sua forma de vida. Posto que, somente as espécies aquáticas possuem o repertório de genes *ndhs* completos, em contraposição aos genes *ndhs* em espécies terrestres, que foram encontrados deletados, pseudogenizados e fragmentados até o presente trabalho.

Em adição, foi possível reconstruir a história evolutiva das espécies a partir de diferentes fontes de dados, como genes, regiões intergênicas, não codificantes e até mesmo a partir da codificação de caracteres em relação a presença e ausência de genes.

As evidências encontradas neste trabalho podem ter implicações futuras no entendimento sobre o processo de pseudogenização que ocorre em cloroplastos e implicações no entendimento sobre a relação entre genes e tolerância a estresse hídrico, em espécies de plantas, inclusive as agriculturáveis.