

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 25/10/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ONTOGENIA E GENÉTICA DE FLORES CASMÓGAMAS E
CLEISTÓGAMAS DE *Utricularia triloba* Benj.
(LENTIBULARIACEAE)**

Samanta Gabriela Medeiros Carvalho

Bióloga

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ONTOGENIA E GENÉTICA DE FLORES CASMÓGAMAS E
CLEISTÓGAMAS DE *Utricularia triloba* Benj.
(LENTIBULARIACEAE)**

Samanta Gabriela Medeiros Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda

Coorientadora: Dra. Saura Rodrigues da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Bartosz J. Płachno

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Samanta Gabriela Medeiros Carvalho, nascida em 25 de fevereiro de 1989, natural de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. Graduada no ano de 2013 em Ciências Biológicas (Licenciatura), pelo Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM), em Sete Lagoas. Realizou estágio e projeto de conclusão de curso no Núcleo de Biologia Aplicada (NBA) na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas (2012-2013), e foi Bolsista BAT II - Bolsa de Apoio Técnico na mesma empresa em 2015. Realizou o mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais (2016-2018), no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, sob orientação da Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza. Em 2018 iniciou o doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, no Laboratório de Sistemática Vegetal sob orientação do Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda, desenvolvendo o presente trabalho de tese como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À minha mãe, Vanete, *in memoriam*, por todo exemplo de dedicação e perseverança, mesmo em momentos adversos.

Ao meu irmão, Guilherme, *in memoriam*, pelos 15 anos de memorável companheirismo.

Ao meu pai, Ronaldo, por seu amor absoluto e apoio indispensável para a realização dos meus sonhos.

Dedico.

C331o Carvalho, Samanta Gabriela Medeiros
Ontogenia e genética de flores casmógamas e cleistógamas de
Utricularia triloba Benj. (Lentibulariaceae) / Samanta Gabriela
Medeiros Carvalho. -- Jaboticabal, 2022
214 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Vitor Fernandes Oliveira de Miranda
Coorientadora: Saura Rodrigues da Silva
Coorientador: Bartosz J. Płachno

1. Morfologia floral. 2. Genes. 3. Dimorfismo. 4. Filogenia. 5.
Plantas carnívoras. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ONTOGENIA E GENÉTICA DE FLORES CASMÓGAMAS E CLEISTÓGAMAS DE *Utricularia triloba* BENJ. (LENTIBULARIACEAE)

AUTORA: SAMANTA GABRIELA MEDEIROS CARVALHO

ORIENTADOR: VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

COORIENTADORA: SAURA RODRIGUES DA SILVA

COORIENTADOR: BARTOSZ JAN PLACHNO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

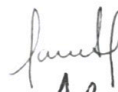
Prof. Dr. VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. DANIEL GUARIZ PINHEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal



Profa. Dra. YANI CRISTINA ARANGUREN DIAZ (Participação Virtual)
Facultad de Ciencias Básicas y Biomedicas / Universidad Simón Bolívar



Prof. Dr. ALESSANDRO DE MELLO VARANI (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. ANA PAULA DE MORAES (Participação Virtual)
Universidade Federal do ABC - Campus São Bernardo do Campo / Centro de Ciências Naturais e Humanas



Jaboticabal, 25 de outubro de 2022

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a força e o discernimento necessários para a busca e realização dos meus sonhos.

Ao meu pai, Ronaldo, por me apoiar em todos os meus objetivos pessoais e profissionais, por sua dedicação e seu amor incondicional. Te amo pai!

À minha mãe, Vanete, e ao meu irmão, Guilherme, (*in memoriam*), por serem meus grandes exemplos de amor, força e persistência. Amo vocês!

Aos familiares, que sempre me incentivaram a construir meu caminho, mesmo que distante fisicamente. Em especial, às avós Neuza e Terezinha, e às tias Rosilene e Ildete, pelo amor incondicional e insubstituível.

Aos amigos, que permaneceram, apoiaram e vibraram com cada conquista minha. Em especial à Patrícia, Jeiza, Mariana, Thaís, Larissa, Bárbara, Alice, Néstor, Fernanda, Amanda, Naiara e Edicleide. Amo vocês!

À Família Sófadinhas, pelas histórias memoráveis e pela incrível experiência de ter uma família tão diversa e acolhedora, que se renova e fortalece a cada ano. Vocês são parte essencial do meu crescimento pessoal e profissional. Em especial à Letícia Vitória, Beatriz Ferracini e Camila Figueiredo por tanto companheirismo, desde 2018. Amo absolutamente todas vocês, SF!

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pelo engrandecimento acadêmico e profissional permitidos.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Dr. Vitor F. O. Miranda, pelos imensuráveis ensinamentos, confiança, paciência, e oportunidade de realizar o meu grande sonho, sendo indispensável para a construção da profissional que sempre almejei me tornar.

Aos coorientadores Dra. Saura R. Silva e Dr. Bartosz J. Płachno, pela paciência, suporte, apoio e grandes ensinamentos, em áreas que nunca imaginei trabalhar.

Aos colegas do Laboratório de Sistemática Vegetal, pelo suporte e contribuição em todas as etapas do meu trabalho, e pela amizade dentro e fora da universidade.

Aos colegas da Universidade Jaguelônica, pela gentileza e momentos inesquecíveis. Em especial à Krzysztof e Sylwia pela amizade e carinho de sempre. Love you guys!

A todos os professores do Programa de Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), por todo conhecimento construído. Em especial à professora Maria Célia Portella, pela disponibilidade em ceder prontamente seu laboratório para a realização de uma das etapas do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha caminhada acadêmica e a realização do meu sonho, o meu

MUITO OBRIGADA!

ONTOGENIA E GENÉTICA DE FLORES CASMÓGAMAS E CLEISTÓGAMAS DE *Utricularia triloba* Benj. (LENTIBULARIACEAE)

RESUMO – O gênero *Utricularia* é o maior dentro da família Lentibulariaceae, e apresenta grande diversidade morfológica, tanto de estruturas vegetativas quanto reprodutivas. Esta diversidade pode estar relacionada à capacidade de conquista e adaptação a novos *habitats*, incluindo variações nas estratégias de reprodução. A plasticidade floral também pode ser encontrada em algumas espécies de *Utricularia*, abrangendo o dimorfismo floral, com a produção de dois tipos de flores distintas, casmógamas (CA) e cleistógamas (CL). Flores CA estão relacionadas à atração de polinizadores e à polinização cruzada, enquanto flores CL apresentam estruturas próximas e isoladas do exterior, favorecendo, assim, a autopolinização. Em *Utricularia* são relatadas ao menos 12 espécies com flores CL, incluindo *U. triloba*, porém, apenas dois trabalhos de morfologia comparativa tratam da descrição deste tipo de flor. Considerando a abordagem genética, não há relatos de estudos de identificação e evolução de genes relacionados à ontogênese floral na família Lentibulariaceae. Sendo assim, no presente trabalho buscamos descrever e comparar a micromorfologia de flores CA e CL de *U. triloba*, assim como identificar e analisar as famílias gênicas ARF e MADS-box, que tem membros com funções relacionadas à formação das principais estruturas florais afetados pela cleistogamia, como pétalas, pistilos e estames. As análises de histologia e microscopia revelaram características consistentes ao relatado para flores CA, e mostraram diferenças importantes nas flores CL, como ausência de tricomas glandulares e diferenças nas células epidérmicas da corola de flores CL. A identificação e as análises evolutivas para as famílias gênicas mostraram expansões e contrações de subfamílias dos genes ARF e MADS-box que podem estar relacionados à adaptação de *U. triloba* a diferentes pressões ambientais, relacionados à ontogênese floral, assim como aos mecanismos que definem o sistema misto de reprodução encontrado em populações naturais desta espécie.

Palavras-chave: Cleistogamia, genes florais, micromorfologia, ontogenia floral, plantas carnívoras

ONTOGENY AND GENETICS OF CHASMOGAMOUS AND CLEISTOGAMOUS FLOWERS OF *Utricularia triloba* Benj. (LENTIBULARIACEAE)

ABSTRACT – The *Utricularia* genus is the largest within the Lentibulariaceae family, presenting high morphological diversity, both for vegetative and reproductive structures. This diversity may be related to the ability to conquer and adapt to new habitats, including variations in reproduction strategies. Floral plasticity can also be found in some *Utricularia* species, including floral dimorphism, with the production of two distinct types of flowers, chasmogamous (CH) and cleistogamous (CL). CH flowers are related to the pollinators' attraction and consequently to cross-pollination, while CL flowers present floral organs close and isolated from the external environment, favoring self-pollination. In *Utricularia*, there are reported at least 12 species with cleistogamous flowers, including *U. triloba*, however, only two comparative morphologic studies covered this type of flower. Regarding the genetic approach there are no reports of studies about identification and evolution of floral ontogenesis genes in the Lentibulariaceae family. In this sense, herein we described and compared the CH and CL flowers micromorphology of *U. triloba*, as well as identified and analyzed the ARF and MADS-box gene families, which have members with related functions to the formation of the main floral organs affected by cleistogamy, such as petals, pistils and stamens. The histologic and microscopic analyses revealed consistent characters that have been reported for CA flowers, and showed important differences in CL Flowers, including the absence of glandular trichomes and differences on corolla epidermis of CL flowers. The identification and evolutionary analyses for the gene families showed subfamilies expansions and contractions of the ARF and MADS-box genes that may be related to the *U. triloba* adaptation to different environmental pressures, as well as to the flower development and formation, and to the mechanisms that define the mixed mating system found in natural populations of this species.

Keywords: Cleistogamy, floral genes, floral ontogeny, micromorphology, carnivorous plants

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

As plantas carnívoras constituem o grupo de espécies capazes de capturar, digerir e absorver nutrientes de presas (Juniper et al., 1989; Ellison e Adamec, 2018). Estas espécies apresentam grande diversidade de formas de vida e tipos de armadilhas, ocorrendo em *micro-habitats* geralmente pobres em nutrientes (Adamec, 1997; Ellison e Adamec, 2018; Hedrich e Fukushima, 2021). Nesse sentido, a síndrome da carnivoría favorece a supressão de alguns macronutrientes como N, P, K, Mg e Ca, que estejam disponíveis em concentrações não ideais para as plantas (Juniper et al., 1989). Além disso, a diversificação a estes tipos de ambientes é resultado de uma história evolutiva favorável ao desenvolvimento de formas de vida e estratégias reprodutivas adaptadas a condições adversas (Hobbhahn et al., 2006; Clivati et al., 2014; Chaudhary et al., 2018).

A família Lentibulariaceae, pertencente à ordem Lamiales, é constituída por três gêneros, tendo *Pinguicula* como um grupo irmão do clado formado pelos gêneros *Genlisea* e *Utricularia* (Müller et al., 2004, 2006; Silva et al., 2018). *Pinguicula* é composto por espécies que apresentam órgãos corporais bem delimitados, típicos das plantas vasculares, como raiz, caule e folha (Rutishauser e Isler, 2001; Rutishauser, 2020), e neste modelo clássico possuem como armadilhas para a carnivoría folhas que secretam mucilagem adesiva (Fleischmann e Rocca, 2018). Por outro lado, *Genlisea* e *Utricularia* não apresentam raízes, assim como apresentam estruturas vegetativas, como caules e folhas, sem limites bem definidos (Jobson et al., 2018; Miranda et al., 2021). Em *Genlisea* e *Utricularia* as armadilhas são folhas subterrâneas, sendo em *Genlisea* armadilhas tubulares, enquanto em *Utricularia* as armadilhas são vesículas chamadas utrículos (Lloyd, 1942; Juniper et al., 1989; Reifenrath et al., 2006; Fleischmann et al., 2014; Poppinga et al., 2017).

A família é cosmopolita, e a grande diversidade morfológica e formas de vida (terricolas, aquáticas, reófitas, litófitas, epífitas) encontradas nas espécies de Lentibulariaceae está diretamente relacionada aos diversos ambientes terrestres e aquáticos onde ocorrem estas espécies (Fleischmann e Rocca, 2018; Jobson et al.,

2018; Płachno et al., 2020; Reut et al., 2021). O Brasil é um dos maiores centros de diversidade, com 90 espécies encontradas no território nacional, o que representa cerca de um quarto das espécies da família (Miranda et al., 2015; Guedes et al., 2020).

Utricularia apresenta espécies com reprodução sexual (xenogamia, autogamia) e vegetativa, seja por meio de brotamento e fragmentação de folhas e estolões ou mesmo por órgãos especializados como tubérculos (Rodrigues et al., 2017; Płachno et al., 2020) e turiões (Adamec, 1999, 2013, 2018; Adamec et al., 2020). Para algumas espécies, como as da sect. *Utricularia* e *Setiscapella*, ocorre dimorfismo floral, além de hercogamia de aproximação (Webb e Lloyd, 1986; Raynal-Roques e Jérémie, 2005), e de estruturas glandulares responsáveis pela produção de atrativos e recursos florais (Clivati et al., 2014; Lustofin et al., 2020b, 2020a; Płachno et al., 2017a, 2017b, 2018b). Contudo, pouco se conhece a respeito da biologia da reprodução das espécies de *Utricularia*, assim como dos outros gêneros de Lentibulariaceae (Aranguren et al., 2018; Płachno et al., 2017a, 2017b, 2018a, 2018b; Chaudhary et al., 2018; Molano-Flores et al., 2018).

O dimorfismo floral, como um tipo de plasticidade em populações naturais, diz respeito à produção de flores com diferentes padrões morfológicos sob um mesmo *background* genético, em resposta à sensibilidade ambiental, durante a ontogenia (Plitmann, 1995; Joly e Schoen, 2021). A cleistogamia é um dos casos de plasticidade estrutural relacionada ao sistema reprodutivo (Cox, 1988; Plitmann, 1995), que permite à espécie a produção de descendentes por reprodução sexuada, mesmo que por autogamia (Jérémie, 1989; Culley e Klooster, 2007; Koontz et al., 2017; Sauquet, 2021). Em populações com o sistema misto de reprodução (casmogamia e cleistogamia) a heterose gerada pela xenogamia favorece a adaptação a ambientes heterogêneos, enquanto a autogamia possibilita a fixação de alelos favoráveis às condições ambientais frequentes, e favorece a continuação da população mesmo em condições de redução ou ausência de polinizadores da espécie (Jérémie, 1989; Culley e Klooster, 2007; Guisande et al., 2007; Thomann et al., 2013). De qualquer forma, a cleistogamia é mais frequente em espécies com corolas zigomorfas, como as espécies de Lentibulariaceae, e deve ser um mecanismo que pode favorecer a autogamia mesmo em espécies com baixa autocompatibilidade e/ou polinizadores muito específicos (Joly e Schoen, 2021).

Do âmbito genético, vários genes vêm sendo identificados nas angiospermas, no intuito de descrever os mecanismos envolvidos na determinação do dimorfismo floral e da cleistogamia (Li et al., 2016; Luo et al., 2016; Wu et al., 2018; Zhang et al., 2020; Wang et al., 2021; Zhao et al. 2021). A busca por estes genes leva em conta, principalmente, as redes gênicas e funções relacionadas ao Sistema ABCE de especificação e desenvolvimento das estruturas florais (Bowman et al., 1991; Causier e Schwarz-Sommer; Davies, 2010; Irish, 2017). Considerando que as espécies de Lentibulariaceae que já apresentam seus genomas sequenciados correspondem aos menores genomas entre as angiospermas (Ibarra-Laclette et al., 2013; Fleischmann et al., 2014; Veleba et al., 2014), este grupo se torna potencial modelo para estudos de identificação de famílias gênicas envolvidas tanto do desenvolvimento vegetativo quanto reprodutivo. Isto possibilita que maiores esclarecimentos sejam feitos sobre padrões evolutivos na família e também para características específicas, como o dimorfismo floral. Espécies com genomas reduzidos são altamente informativas para investigações de repertórios gênicos mínimos necessários ao crescimento e reprodução das plantas (Ibarra-Laclette et al., 2013; Hepler et al., 2020; Silva et al., 2020). Além disso, a expansão e/ou contração de genes pode refletir diretamente em padrões evolutivos distintos e específicos das espécies para adaptação e diversificação (Leebens-Mack et al., 2019).

Nesse contexto, o presente estudo visa contribuir para a compreensão dos processos que norteiam a biologia da reprodução em *Utricularia*, tendo como espécie modelo *U. triloba*, que até o momento são escassas as informações sobre a micromorfologia e o dimorfismo floral nesta espécie. Além disso, a abordagem genética do presente trabalho objetiva contribuir para o conhecimento evolutivo de Lentibulariaceae ao identificar, pela primeira vez em *U. triloba*, famílias gênicas que possam estar relacionadas e ser investigadas posteriormente sobre a expressão gênica diferencial entre as flores casmógamas e cleistógamas, e sobre repertórios gênicos específicos da espécie ou do gênero indispensáveis para a conquista e adaptação de ambientes com condições peculiares. Os genes aqui considerados candidatos às investigações em trabalhos futuros podem ser cruciais para entendermos melhor os mecanismos florais no gênero *Utricularia* e na família Lentibulariaceae.

5. CONCLUSÕES

No presente trabalho, nós identificamos e analisamos os genes da família MADS-box pela primeira vez em *Utricularia triloba*. Nossos resultados mostraram subfamílias candidatas dos genes MADS-box para serem investigadas futuramente quanto à sua função no gênero *Utricularia*, por apresentarem padrões de expansão gênica no genoma de *U. triloba*. Estas subfamílias incluem os genes SOC1, que apresentaram expansão no número de ortólogos, e que vem sendo relatado com expansões em outras espécies de *Utricularia*, como *U. gibba* e *U. reniformis*. Além de SOC1, quatro das cinco subfamílias pertencentes ao Sistema ABCE foram identificadas com expansão gênica (B, C, D e E), tendo a subfamília B com expansão apenas em *U. triloba*. A perda dos genes da subfamília AGL17 também é significativa para o gênero, já que resultados semelhantes foram relatados em outras espécies de *Utricularia*, como *U. gibba* e *U. vulgaris*. Nesse sentido, a ausência destes genes em *U. triloba* pode ser sugerida pelo fato das espécies do gênero *Utricularia* não apresentarem raízes. Além disso, nossos resultados estiveram em concordância com outros trabalhos recentemente publicados sobre a família MADS-box, e nesse sentido, forneceu informações importantes para análises comparativas e funcionais destes genes nas angiospermas.

6. REFERÊNCIAS

Akaike H (1973) Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In.: Petrov BN, Csaki F (Eds) **2nd International Symposium on Information Theory**. Budapest, p. 267–281.

Albert VA, Jobson RW, Michael TP, Taylor DJ (2010) The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): A system inflates **Journal of Experimental Botany** 61:5–9.

Alvarez-Buylla ER, García-Ponce B, Sánchez MP, Espinosa-Soto C, García-Gómez ML, Piñeyro-Nelson A, Garay-Arroyo A (2019) MADS-box genes underground becoming mainstream: Plant root developmental mechanisms **New Phytologist** 223:1143–1158.

Alvarez-Buylla ER, Liljegren SJ, Pelaz S, Gold SE, Burgeff C, Ditta GS, Vergara-Silva F, Yanofsky MF (2000b) MADS-box gene evolution beyond flowers: Expression in pollen endosperm guard cells roots and trichomes **The Plant Journal** 24:457–466.

Alvarez-Buylla ER, Pelaz S, Liljegren SJ, Gold SE, Burgeff C, Ditta GS, Pouplana LR, Martínez-Castilla L, Yanofsky MF (2000a) An ancestral MADS-box gene duplication occurred before the divergence of plants and animals **Proceedings of the National Academy of Sciences** 97:5328–5333.

Amborella Genome Project (2013). The *Amborella* Genome and the Evolution of Flowering Plants. **Science** 342: 6165.

Bailey TL, Boden M, Buske FA, Frith M, Grant CE, Clementi L, Ren J, Li WW, Noble WS (2009) MEME Suite: Tools for motif discovery and searching **Nucleic Acids Research** 37:W202–W208.

Bárta J, Stone JD, Pech J, Sirová D, Adamec L, Campbell MA, Štorchová H (2015) The transcriptome of *Utricularia vulgaris* a rootless plant with minimalist genome reveals extreme alternative splicing and only moderate sequence similarity with *Utricularia gibba* **BMC Plant Biology** 15:78.

Bell TJ, Quinn JA (1987) Effects of soil moisture and light intensity on the chasmogamous and cleistogamous components of reproductive effort of *Dichantherium clandestinum* populations **Canadian Journal of Botany** 65:2243–2249.

Bemer M, Heijmans K, Airoidi C, Davies B, Angenent GC (2010) An Atlas of Type I MADS Box Gene Expression during Female Gametophyte and Seed Development in *Arabidopsis* **Plant Physiology** 154:287–300.

Bemer M, Wolters-Arts M, Grossniklaus U, Angenent GC (2008) The MADS Domain Protein DIANA Acts Together with AGAMOUS-LIKE80 to Specify the Central Cell in *Arabidopsis* Ovules **The Plant Cell** 20:2088–2101.

Boeva V (2016) Analysis of Genomic Sequence Motifs for Deciphering Transcription Factor Binding and Transcriptional Regulation in Eukaryotic Cells. **Frontiers in Genetics** 7:24.

Bowman JL, Smyth DR, Meyerowitz EM (1991) Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis* **Development** 112:1–20.

Bowman JL, Smyth DR, Meyerowitz EM (2012) The ABC model of flower development: Then and now **Development** 139:4095–4098.

Bukhari G, Zhang J, Stevens PF, Zhang W (2017) Evolution of the process underlying floral zygomorphy development in pentapetalous angiosperms **American Journal of Botany** 104:1846–1856.

Campbell LG, Albert LP, Gumuser ED, Whitney KD (2016) Water-induced stress influences the relative investment in cleistogamous and chasmogamous flowers of an invasive grass *Microstegium vimineum* (Poaceae) **Plant Ecology & Diversity** 9:339–348.

Carretero-Paulet L, Librado P, Chang T-H, Ibarra-Laclette E, Herrera-Estrella L, Rozas J, Albert VA (2015) High Gene Family Turnover Rates and Gene Space Adaptation in the Compact Genome of the Carnivorous Plant *Utricularia gibba* **Molecular Biology and Evolution** 32:1284–1295.

Causier B, Schwarz-Sommer Z, Davies B (2010) Floral organ identity: 20 years of ABCs **Seminars in Cell e Developmental Biology** 21:73–79.

Chang W, Guo Y, Zhang H, Liu X, Guo L (2020) Same Actor in Different Stages: Genes in Shoot Apical Meristem Maintenance and Floral Meristem Determinacy in *Arabidopsis* **Frontiers in Ecology and Evolution** 8:1–12.

Chen D, Yan W, Fu L-Y, Kaufmann K (2018) Architecture of gene regulatory networks controlling flower development in *Arabidopsis thaliana* **Nature Communications** 9: 4534.

Coen ES, Meyerowitz EM (1991) The war of the whorls: Genetic interactions controlling flower development **Nature** 353:31–37.

Colombo M, Masiero S, Vanzulli S, Lardelli P, Kater MM, Colombo L (2008) AGL23 a type I MADS-box gene that controls female gametophyte and embryo development in *Arabidopsis* **The Plant Journal** 54:1037–1048.

Crooks GE, Hon G, Chandonia J-M, Brenner SE (2004) WebLogo: A Sequence Logo Generator **Genome Research** 14:1188–1190.

Cucinotta M, Cavalleri A, Chandler JW, Colombo L (2020) Auxin and Flower Development: A Blossoming Field **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology** 13:a039974-84.

Culley TM, Klooster MR (2007) The Cleistogamous Breeding System: A Review of Its Frequency Evolution and Ecology in Angiosperms **Botanical Review** 73:1–30.

De Bodt S, Raes J, Florquin K, Rombauts S, Rouzé P, Theißen G, Van de Peer Y (2003b) Genomewide Structural Annotation and Evolutionary Analysis of the Type I MADS-Box Genes in Plants **Journal of Molecular Evolution** 56:573–586.

De Bodt S, Raes J, Van de Peer Y, Theißen G (2003a) And then there were many: MADS goes genomic **Trends in Plant Science** 8:475–483.

D'haeseleer P (2006) What are DNA sequence motifs?. **Nature Biotechnology** 24:423-425.

Dubrovsky JG, Ivanov VB (2021) The quiescent centre of the root apical meristem: Conceptual developments from Clowes to modern times **Journal of Experimental Botany** 72:6687–6707.

Egea-Cortines M, Saedler H, Sommer H (1999) Ternary complex formation between the MADS-box proteins SQUAMOSA DEFICIENS and GLOBOSA is involved in the control of floral architecture in *Antirrhinum majus* **The EMBO Journal** 18:5370–5379.

Gregis V, Sessa A, Colombo L, Kater MM (2006) AGL24 SHORT VEGETATIVE PHASE and APETALA1 Redundantly Control AGAMOUS during Early Stages of Flower Development in *Arabidopsis* **The Plant Cell** 18:1373–1382.

Henschel K, Kofuji R, Hasebe M, Saedler H, Münster T, Theißen G (2002) Two Ancient Classes of MIKC-type MADS-box Genes are Present in the Moss *Physcomitrella patens* **Molecular Biology and Evolution** 19:801–814.

Hu L, Liu S (2012) Genome-wide analysis of the MADS-box gene family in cucumber **Genome** 55:245–256.

Ibarra-Laclette E, Lyons E, Hernández-Guzmán G, Pérez-Torres CA, Carretero-Paulet L, Chang T-H, Lan T, Welch AJ, Juárez MJA, Simpson J, Fernández-Cortés A, Arteaga-Vázquez M, Góngora-Castillo E, Acevedo-Hernández G, Schuster SC, Himmelbauer H, Minoche AE, Xu S, Lynch M, Herrera-Estrella L (2013) Architecture and evolution of a minute plant genome **Nature** 498:94–98.

Irish V (2017) The ABC model of floral development **Current Biology** 27:R887–R890

Jaillon O, Aury J-M, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choisne N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C, Vezzi A, Legeai F, Huguene P, Dasilva C, Horner D, Mica E, Jublot D, Poulain J, Bruyère C... The French–Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla **Nature** 449:463–467.

Kang I-H, Steffen JG, Portereiko MF, Lloyd A, Drews GN (2008) The AGL62 MADS Domain Protein Regulates Cellularization during Endosperm Development in *Arabidopsis* **The Plant Cell** 20:635–647.

Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD (2019) MAFFT online service: Multiple sequence alignment interactive sequence choice and visualization **Briefings in Bioinformatics** 20:1160–1166.

Kaufmann K, Melzer R, Theißen G (2005) MIKC-type MADS-domain proteins: Structural modularity protein interactions and network evolution in land plants **Gene** 347:183–198.

Lee S, Woo Y-M, Ryu S-I, Shin Y-D, Kim WT, Park KY, Lee I-J, An G (2008) Further Characterization of a Rice AGL12 Group MADS-Box Gene OsMADS26 **Plant Physiology** 147:156–168.

Leebens-Mack JH, Barker MS, Carpenter EJ, Deyholos MK, Gitzendanner MA, Graham SW, Grosse I, Li Z, Melkonian M, Mirarab S, Porsch M, Quint M, Rensing SA, Soltis DE, Soltis PS, Stevenson DW, Ullrich KK, Wickett NJ, DeGironimo L ... One Thousand Plant Transcriptomes Initiative (2019) One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants **Nature** 574:679–685.

Li Q, Huo Q, Wang J, Zhao J, Sun K, He C (2016) Expression of B-class MADS-box genes in response to variations in photoperiod is associated with chasmogamous and cleistogamous flower development in *Viola philippica* **BMC Plant Biology** 16:151.

Li Q, Li J, Zhang L, Pan C, Yang N, Sun K, He C (2021) Gibberellins are required for dimorphic flower development in *Viola philippica* **Plant Science** 303:110749.

Lin Z, Cao D, Damaris RN, Yang P (2020) Genome-wide identification of MADS-box gene family in sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) identifies a SEPALLATA homolog gene involved in floral development **BMC Plant Biology** 20:497.

Liu X, Sun Z, Dong W, Wang Z, Zhang L (2018) Expansion and Functional Divergence of the SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP) Genes in Eudicots **Genome Biology and Evolution** 10:3026–3037.

Lord EM (1981) Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis function and evolution. **The Botanical Review** 47:421–449.

Luo Y, Hu J-Y, Li L, Luo Y-L, Wang P-F, Song B-H (2016) Genome-wide analysis of gene expression reveals gene regulatory networks that regulate chasmogamous and cleistogamous flowering in *Pseudostellaria heterophylla* (Caryophyllaceae) **BMC Genomics** 17:382.

Masiero S, Colombo L, Grini PE, Schnittger A, Kater MM (2011) The Emerging Importance of Type I MADS Box Transcription Factors for Plant Reproduction **The Plant Cell** 23:865–872.

Messenguy F, Dubois E (2003) Role of MADS box proteins and their cofactors in combinatorial control of gene expression and cell development **Gene** 316:1–21.

Montiel G, Gaudet M, Laurans F, Rozenberg P, Simon M, Gantet P, Jay-Allemand C, Breton C (2020) Overexpression of MADS-box Gene AGAMOUS-LIKE 12 Activates Root Development in *Juglans* sp And *Arabidopsis thaliana* **Plants** 9:444.

Morinaga S-I, Nagano AJ, Miyazaki S, Kubo M, Demura T, Fukuda H, Sakai S, Hasebe M (2008) Ecogenomics of cleistogamous and chasmogamous flowering: Genome-wide gene expression patterns from cross-species microarray analysis in *Cardamine kokoiensis* (Brassicaceae) **Journal of Ecology** 96:1086–1097.

Nam J, Kim J, Lee S, An G, Ma H, Nei M (2004) Type I MADS-Box Genes Have Experienced Faster Birth-and-Death Evolution Than Type II MADS-Box Genes in Angiosperms **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 101:1910–1915.

Ng M, Yanofsky MF (2001) Function and evolution of the plant MADS-box gene family **Nature Reviews Genetics** 2:186–195.

Nguyen L-T, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ (2015) IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies **Molecular Biology and Evolution** 32:268–274.

Norman C, Runswick M, Pollock R, Treisman R (1988) Isolation and properties of cDNA clones encoding SRF a transcription factor that binds to the c-fos serum response element **Cell** 55:989–1003.

Pařenicová L, Folter S, Kieffer M, Horner DS, Favalli C, Busscher J, Cook HE, Ingram RM, Kater MM, Davies B, Angenent GC, Colombo L (2003) Molecular and Phylogenetic Analyses of the Complete MADS-Box Transcription Factor Family in *Arabidopsis*: New Openings to the MADS World[W] **The Plant Cell** 15:1538–1551.

Passmore S, Maine GT, Elble R, Christ C, Tye B-K (1988) *Saccharomyces cerevisiae* protein involved in plasmid maintenance is necessary for mating of MAT α cells **Journal of Molecular Biology** 204:593–606.

Portereiko MF, Lloyd A, Steffen JG, Punwani JA, Otsuga D, Drews GN (2006) AGL80 Is Required for Central Cell and Endosperm Development in *Arabidopsis* **The Plant Cell** 18:1862–1872.

Puig J, Meynard D, Khong GN, Pauluzzi G, Guiderdoni E, Gantet P (2013) Analysis of the expression of the AGL17-like clade of MADS-box transcription factors in rice **Gene Expression Patterns** 13:160–170.

Rambaut A (2018) FigTree v144 **University of Edinburgh** Edinburgh. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.

Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic

Inference and Model Choice Across a Large Model Space **Systematic Biology** 61:539–542.

Saha G, Park J-I, Jung H-J, Ahmed NU, Kayum MA, Chung M-Y, Hur Y, Cho Y-G, Watanabe M, Nou I-S (2015) Genome-wide identification and characterization of MADS-box family genes related to organ development and stress resistance in *Brassica rapa* **BMC Genomics** 16:178.

Schreiber DN, Bantin J, Dresselhaus T (2004) The MADS Box Transcription Factor ZmMADS2 Is Required for Anther and Pollen Maturation in Maize and Accumulates in Apoptotic Bodies during Anther Dehiscence **Plant Physiology** 134:1069–1079.

Shore P, Sharrocks AD (1995) The MADS-box family of transcription factors **European Journal of Biochemistry** 229:1–13.

Silva SR, Moraes AP, Penha HA, Julião MHM, Domingues DS, Michael TP, Miranda VFO, Varani AM (2020) The Terrestrial Carnivorous Plant *Utricularia reniformis* Sheds Light on Environmental and Life-Form Genome Plasticity **International Journal of Molecular Sciences** 21:3.

Sommer H, Beltran J-P, Huijser P, Pape H, Lönig W-E, Saedler H, Schwarz-Sommer Z (1990) Deficiens a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: The protein shows homology to transcription factors **The EMBO Journal** 9:605–613.

Specht CD, Yockteng R, Almeida AM, Kirchoff BK, Kress WJ (2012) Homoplasmy Pollination and Emerging Complexity During the Evolution of Floral Development in the Tropical Gingers (Zingiberales) **The Botanical Review** 78:440–462.

Sternberger AL, Ruhil AVS, Rosenthal DM, Ballard HE, Wyatt SE (2020) Environmental impact on the temporal production of chasmogamous and cleistogamous flowers in the mixed breeding system of *Viola pubescens* **PLOS ONE** 15:e0229726.

Tapia-López R, García-Ponce B, Dubrovsky JG, Garay-Arroyo A, Pérez-Ruiz RV, Kim S-H, Acevedo F, Pelaz S, Alvarez-Buylla ER (2008) An AGAMOUS-Related MADS-Box Gene XAL1 (AGL12) Regulates Root Meristem Cell Proliferation and Flowering Transition in *Arabidopsis* **Plant Physiology** 146:1182–1192.

The Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* **Nature** 408:796–815.

Theissen G, Becker A, Di Rosa A, Kanno A, Kim JT, Münster T, Winter K-U, Saedler H (2000) A short history of MADS-box genes in plants **Plant Molecular Biology** 42:115–149.

Tian Y, Dong Q, Ji Z, Chi F, Cong P, Zhou Z (2015) Genome-wide identification and analysis of the MADS-box gene family in apple **Gene** 555:277–290.

Tomato Genome Consortium (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution **Nature** 485:635–641.

Tsai W-C, Pan Z-J, Hsiao Y-Y, Chen L-J, Liu Z-J (2014) Evolution and function of MADS-box genes involved in orchid floral development **Journal of Systematics and Evolution** 52:397–410.

Wang R, Ming M, Li J, Shi D, Qiao X, Li L, Zhang S, Wu J (2017b) Genome-wide identification of the MADS-box transcription factor family in pear (*Pyrus bretschneideri*) reveals evolution and functional divergence **PeerJ** 5:e3776.

Wei B, Zhang R-Z, Guo J-J, Liu D-M, Li A-L, Fan R-C, Mao L, Zhang X-Q (2014) Genome-Wide Analysis of the MADS-Box Gene Family in *Brachypodium distachyon* **PLOS ONE** 9:e84781.

Wils CR, Kaufmann K (2017) Gene-regulatory networks controlling inflorescence and flower development in *Arabidopsis thaliana* **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms** 1860:95–105.

Wu CA, Lowry DB, Cooley AM, Wright KM, Lee YW, Willis JH (2008) *Mimulus* is an emerging model system for the integration of ecological and genomic studies **Heredity** 100:220–230.

Yanofsky MF, Ma H, Bowman JL, Drews GN, Feldmann KA, Meyerowitz EM (1990) The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene *agamous* resembles transcription factors **Nature** 346:35–39.

Yu L-H, Miao Z-Q, Qi G-F, Wu J, Cai X-T, Mao J-L, Xiang C-B (2014) MADS-Box Transcription Factor AGL21 Regulates Lateral Root Development and Responds to Multiple External and Physiological Signals **Molecular Plant** 7:1653–1669.

Yu YT, Breitbart RE, Smoot LB, Lee Y, Mahdavi V, Nadal-Ginard B (1992) Human myocyte-specific enhancer factor 2 comprises a group of tissue-restricted MADS box transcription factors **Genes & Development** 6:1783–1798.

Yu Y-K, Li Y-L, Ding L-N, Sarwar R, Zhao F-Y, Tan X-L (2020) Mechanism and Regulation of Silique Dehiscence Which Affects Oil Seed Production **Frontiers in Plant Science** 11:580.

Zhang L, Zhao J, Feng C, Liu M, Wang J, Hu Y (2017) Genome-wide identification characterization of the MADS-box gene family in Chinese jujube and their involvement in flower development **Scientific Reports** 7:1025.

Zhang X, Wang Q, Yang S, Lin S, Bao M, Bendahmane M, Wu Q, Wang C, Fu X (2018) Identification and Characterization of the MADS-Box Genes and Their Contribution to Flower Organ in Carnation (*Dianthus caryophyllus* L) **Genes** 9:193.

Zhao Y, Li X, Chen W, Peng X, Cheng X, Zhu S, Cheng B (2011) Whole-genome survey and characterization of MADS-box gene family in maize and sorghum **Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)** 105:159–173.