

Estado de conservação de plantas carnívoras: Filogenômica e
genotipagem por meio do sequenciamento de nova geração de
populações de *Utricularia gibba* e *U. foliosa* (seção *Utricularia*:
Lentibulariaceae)*

Pós-doutoranda

Saura Rodrigues da Silva, Dra.

Supervisor - Pesquisador Responsável no Brasil

Vitor Fernandes Oliveira de Miranda, Prof. Dr.

Agência de Fomento: Edital PROPe – 13/2022

Departamento: Departamento de Biologia

campus Jaboticabal-SP
2024

Relatório de Pós-Doutorado

Estado de conservação de plantas carnívoras: Filogenômica e genotipagem por meio do sequenciamento de nova geração de populações de *Utricularia gibba* e *U. foliosa* (seção *Utricularia*: Lentibulariaceae)*

Pós-doutoranda

Saura Rodrigues da Silva, Dra.
Universidade Estadual Paulista – UNESP – câmpus Jaboticabal

Supervisor – Pesquisador Responsável no Brasil

Vitor Fernandes Oliveira de Miranda, Prof. Dr.
Universidade Estadual Paulista – UNESP – câmpus Jaboticabal

Pesquisadora Responsável na Colômbia

Yani Cristina Aranguren Díaz, Profa. Dra.
Universidad Simón Bolívar

Programa de Pós-graduação:

Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)

Departamento: Departamento de Biologia

Agência de Fomento: Edital PROPe – 13/2022

Auxílio Vinculado: Projeto de Pesquisa Auxílio Regular “Filogenômica de *Utricularia* (seção *Utricularia*: Lentibulariaceae): uma possível história de evolução reticulada e estado de conservação de um grupo de plantas carnívoras”, financiado pela FAPESP (Proc. n. 2020/11053-1), e do Projeto PQ-2 “Filogenômica de *Utricularia* (seção *Utricularia*: Lentibulariaceae): uma possível história de evolução reticulada”, financiado pelo CNPq (Proc. n. 315711/2021-3)

Grande Área: Ciências Biológicas

Linha de pesquisa: Sistemática vegetal, biodiversidade genômica, evolução e conservação de plantas

Resumo

A célere perda da biodiversidade exerce marcante impacto global negativo. Sendo que os estudos de genética de populações nos permite traçar planos para conservação da variabilidade genética e, conseqüentemente, a conservação da biodiversidade. Dentro deste contexto, inúmeras espécies da fauna e flora ainda carecem de estudos populacionais a fim de se avaliar o tamanho das populações, conectividade, diversidade genética, heterozigosidade hibridização e a capacidade de se adaptarem às mudanças climáticas, e entender os fatores que governam as mudanças genéticas e, nesse contexto, o gênero *Utricularia* não é exceção. Estas espécies de plantas carnívoras possuem adaptações foliares, chamados de utrículos, para a captura, digestão de presas e absorção de seus nutrientes. Além disso, são plantas modelo para estudos genômicos pois possuem os menores genomas entre todas as angiospermas e possuem elevadas taxas de substituição nucleotídicas, sendo *U. gibba* a espécie de menor genoma sequenciado e montado em alta qualidade. As espécies *U. gibba* e *U. foliosa* são amplamente distribuídas na América do Sul, e para compreender melhor o estado de conservação e processos que permitiram a colonização delas em diferentes locais, é importante conhecer a diversidade das populações do Brasil e de países vizinhos, como a Colômbia. Sendo assim, a pesquisa tem como objetivo principal a análise filogenética e filogeográfica a partir de dados de sequenciamento de nova geração (Genotype-by-Sequencing - GBS) em populações de *U. gibba* e *U. foliosa*. As análises indicam que *U. foliosa* e *U. gibba* enfrentam desafios significativos de isolamento genético e perda de *habitat*. As populações amazônicas estão em melhor estado de conservação devido à alta conectividade genética. Contudo, as populações do Sudeste, Centro-Oeste e da Colômbia são mais vulneráveis, necessitando de medidas específicas como a criação de áreas protegidas, restauração de habitats degradados e mitigação de impactos antropogênicos para garantir sua sobrevivência a longo prazo.

Introdução

Brasil e Colômbia abrigam uma diversidade de espécies tão grande que fazem parte dos países megadiversos do planeta, e essa riqueza está representada em inúmeros ecossistemas e formas de vida (Myers *et al.* 2000; Hrdina and Romportl 2017). No entanto, é alarmante que no último relatório do WWF seja reportado que na América Central e do Sul houve uma perda de 80% das espécies (WWF World Wide Fund for Nature 2018). Atividades humanas como agricultura, pecuária e crescimento urbano têm reduzido ecossistemas, fragmentando-os, isolando populações de espécies selvagens, expondo-as à extinção e comprometendo os serviços ecossistêmicos (Frankham 2005; Aguilar *et al.* 2008). É por isso que políticas públicas nacionais como o Pacto pela Sustentabilidade do Plano Nacional de Desenvolvimento 2018-2022, alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), buscam proteger esses sistemas naturais (Gobierno de Colombia; DNP 2018).

A família Lentibulariaceae é um grupo de plantas carnívoras muito bem representadas nesses países, considerando que o Brasil é um centro de diversidade da família (Taylor 1991; McPherson 2010), entretanto, o conhecimento sobre o estado de conservação dessas espécies é escasso. Além disso, estudos sobre a diversidade de espécies que são encontradas na Colômbia são pífios. As Lentibulariaceae fazem parte da ordem Lamiales, do clado Asterídeas (APG IV, 2016), uma ordem relativamente jovem (originada há cerca de 95 milhões de anos) que possui o maior número de espécies carnívoras conhecidas, e cujas linhagens evoluíram a partir de ancestrais com folhas adesivas (McPherson 2010; Schäferhoff *et al.* 2010; Refulio-Rodriguez and Olmstead 2014). A família Lentibulariaceae é composta por aproximadamente 370 espécies agrupadas em três gêneros: *Pinguicula*, *Genlisea* e *Utricularia*, cujos mecanismos de captura de presas são diferentes para cada gênero (Juniper *et al.* 1988; Fleischmann 2012a; Fleischmann *et al.* 2015; Ellison and Adamec 2018).

As espécies de *Utricularia* e *Genlisea* têm sido foco de vários estudos relacionados tanto ao seu hábito carnívoro, quanto aos seus atributos relacionados ao genoma e evolução do DNA. O clado *Utricularia-Genlisea* apresenta as espécies que com as maiores taxas de substituição de nucleotídeos em todas as angiospermas, sendo esta característica possivelmente relacionada à alta diversificação e adaptação aos diversos ambientes onde as espécies ocorrem, principalmente de *Utricularia* (Jobson *et al.* 2004; Müller *et al.* 2004; Cieslak *et al.* 2005; Albert *et al.* 2010). Várias espécies de *Utricularia* e *Genlisea* têm genomas mínimos, alguns com os menores genomas conhecidos para plantas (Ibarra-Laclette *et al.* 2013; Fleischmann *et al.* 2014; Veleba *et al.* 2014).

A seção *Utricularia* (*Utricularia* sect. *Utricularia*) é a segunda seção mais rica do gênero *Utricularia* com aproximadamente 40 espécies (Taylor 1989; Fleischmann 2012b; Adamec 2020) distribuídas em todo o mundo, com espécies nas regiões árticas e temperadas do Hemisfério Norte, mas que possui mais espécies distribuídas na região tropical (Thor 1988; Taylor 1989). Apesar da alta diversidade morfológica encontrada nas espécies da seção, a maioria delas compartilha características como a forma oval dos utrículos (as armadilhas foliares) com dois apêndices simples ou ramificados (Taylor 1989; Reifenrath *et al.* 2006), flores de corola amarela (às vezes brancas, lilases ou roxas) (Plachno *et al.*, 2018; Taylor 1989), pólen colporado 10-22 e sementes aladas ou com projeções multicelulares (Taylor 1989; Lobreau-Callen *et al.* 1999; Beretta *et al.* 2014). A identificação baseada em órgãos vegetativos é imprecisa para algumas espécies, principalmente para espécies europeias (Astuti and Peruzzi 2018a; Adamec 2020; Astuti *et al.* 2020). A maioria das espécies tem folhas (às vezes interpretadas como filocládios) divididas em segmentos capilares com dentes terminais (Taylor 1989; Astuti and Peruzzi 2018a) e algumas apresentam ramos dimórficos constituídos por ramos clorofilados, com função fotossintetizante, e ramos com função carnívora, portadora das armadilhas (utrículos) (Taylor 1989; Adamec 2007). Certas espécies têm flutuadores radiais espiralados na base das inflorescências que os mantêm florescendo acima da superfície da água (Taylor 1989). Questões básicas sobre a anatomia desses órgãos (Deva 1953; Rutishauser 1993), bem como se são homólogos ou homoplásticos, resultado de múltiplas origens filogenéticas, ainda são desconhecidas. As espécies perenes de climas temperados e polares produzem hibernáculos formados pela condensação das folhas modificadas nos ápices caulinares (Plachno *et al.* 2014; Adamec 2018; Adamec *et al.* 2020), sendo sinapomorfia para a seção *Utricularia* (Plachno *et al.* 2020). Essas estruturas resistem ao congelamento de corpos d'água no inverno,

regenerando-se em novas plantas durante a primavera (Adamec 2011a, 2018; Adamec and Kučerová 2013). Assim, eles desempenham um papel importante para a colonização e estabelecimento de novas populações (Grace 1993; Les and Philbrick 1993). E entre as espécies da seção, as mais amplamente distribuídas no Brasil e na Colômbia são as espécies objeto deste estudo: *Utricularia gibba* e *U. foliosa*.

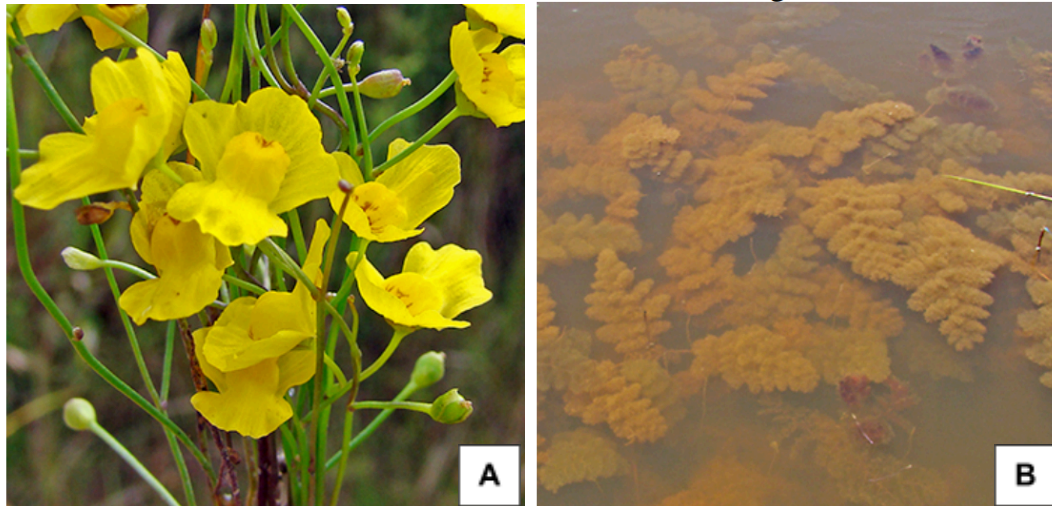


Figura 1. A. Flores de *Utricularia gibba*. **B.** Hábito de *U. foliosa*

Utricularia gibba (Fig. 1A) é uma espécie de distribuição cosmopolita, caracterizada por seu pequeno tamanho, flores amarelas, estolões capilariformes e frutos secos. Têm despertado grande interesse da comunidade científica por ser a espécie de menor genoma sequenciado entre todas as angiospermas (~100 Mpb; Ibarra-Laclette *et al.*, 2013; Lan *et al.*, 2017). Já *U. foliosa* (Fig. 1B), que ocorre somente na região neotropical e afrotropical, é uma espécie caracterizada por flores amarelas, estolões achatados robustos, que podem atingir metros de comprimento, e frutos bacáceos deiscntes.

Ambas as espécies colonizam corpos de águas rasas a profundas em lagos, rios e planícies alagáveis. Além disso, *U. gibba* também pode ser encontrada sob o solo, em esfagno úmido. Além da reprodução sexuada, se propagam por reprodução clonal, que favorece a dispersão e sobrevivência dessas espécies em ambientes estressantes, de variação hídrica sazonal. Devido à ampla distribuição latitudinal e altitudinal dessas espécies, a morfologia varia em caracteres como tamanho do hábito, tamanho da corola, comprimento da inflorescência, entre outros. Em trabalhos anteriores à monografia de Taylor (1989), várias dessas diferenças morfológicas sutis levaram à confusão e separações de espécimes, que motivou descrições de novas espécies, atualmente sinonimizadas em *U. gibba* (Taylor 1989).

Assim, a quantidade de evidências que indica as complexas relações entre as espécies de *Utricularia* e também as lacunas no conhecimento sobre sua história evolutiva exigem o uso de marcadores moleculares mais polimórficos, e efetivos para análise em nível populacional, como *Genotyping-by-Sequencing*, com abordagens e propostas analíticas atualizadas para que se possa reconstruir uma hipótese filogenética robusta que permita compreender as relações entre as populações e o estado de conservação das espécies.

Objetivos

Objetivo geral

Estudar a história evolutiva, biogeográfica e estado de conservação de espécies de *Utricularia gibba* e *Utricularia foliosa* em populações do Brasil e da Colômbia.

Objetivos específicos

- (1) Estimar a diversidade genética de espécies *Utricularia foliosa* e *U. gibba* do Brasil e da Colômbia.
- (2) Prospectar marcadores genéticos (SNPs) dos diferentes compartimentos genômicos de espécies da seção *Utricularia*, das espécies neotropicais *Utricularia foliosa* e *U. gibba*.
- (3) Determinar as relações evolutivas e filogenéticas entre as populações e espécies brasileiras, colombianas da seção *Utricularia*.
- (4) Buscar polimorfismos nas espécies brasileiras e colombianas, assim como verificar se há alguma congruência com as relações filogenômicas e geográficas (estrutura genética e conectividade entre as populações de cada país).

Referências Bibliográficas

- Adamec L. 2007.** Investment in carnivory in *Utricularia stygia* and *U. intermedia* with dimorphic shoots. *Preslia* **79**: 127–139.
- Adamec L. 2011a.** Dark respiration and photosynthesis of dormant and sprouting turions of aquatic plants. *Fundamental and Applied Limnology* **179**: 151–158.
- Adamec L. 2011b.** By which mechanism does prey capture enhance plant growth in aquatic carnivorous plants: Stimulation of shoot apex? *Fundamental and Applied Limnology* **178**: 171–176.
- Adamec L. 2018.** Ecophysiological characteristics of turions of aquatic plants: A review. *Aquatic Botany* **148**: 64–77.
- Adamec L. 2020.** Biological flora of Central Europe: *Utricularia intermedia* Hayne, *U. ochroleuca* R.W. Hartm., *U. stygia* Thor and *U. bremii* Heer ex Kolliker. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. **44**: 1–20.
- Adamec L, Kučerová A. 2013.** Overwintering temperatures affect freezing temperatures of turions of aquatic plants. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **208**: 497–501.
- Adamec L, Kučerová A, Janeček Š. 2020.** Mineral nutrients, photosynthetic pigments and storage carbohydrates in turions of 21 aquatic plant species. *Aquatic Botany* **165**:1–9.
- Aerts R, Honnay O. 2011.** Forest restoration, biodiversity and ecosystem functioning. *BMC Ecology* **11**: 1–10.
- Agarwal M, Shrivastava N, Padh H. 2008.** Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant cell reports* **27**: 617–31.
- Aguilar R, Quesada M, Ashwoth L, Herrerias-Diego Y, Lobo J. 2008.** Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* **17**: 5177–5188.
- Albert VA, Jobson RW, Michael TP, Taylor DJ. 2010.** The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): A system inflates. *Journal of Experimental Botany* **61**: 5–9.
- Albert V, Williams S, Chase M. 1992.** Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science* **257**: 1491–1495.
- Andrews S. 2015.** FASTQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. *Babraham Institute*. < <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>> Acessado em 8 de agosto de 2020.
- Andrews KR, Good JM, Miller MR, Luikart G, Hohenlohe PA. 2016.** Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics* **17**: 81–92.
- APG IV. 2016.** 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**: 1–20.
- Araki S. 2000.** Variation of sterility and fertility in *Utricularia australis* f. *australis* in Hokkaido, northern Japan. *Ecological Research* **15**: 193–201.
- Araki, S., Kadono, Y. 2003.** Restricted seed contribution and clonal dominance in a free-floating aquatic plant *Utricularia australis* R. Br. in southwestern Japan. *Ecol Res* **18**, 599–609.
- Astuti G, Peruzzi L. 2018a.** Are shoots of diagnostic value in Central European bladderworts (*Utricularia* L., Lentibulariaceae)? *Plant Biosystems* **3504**: 1–13.
- Astuti G, Peruzzi L. 2018b.** Are shoots of diagnostic value in Central European bladderworts (*Utricularia* L., Lentibulariaceae)? *Plant Biosystems* **152**: 1214–1226.
- Astuti G, Petroni G, Adamec L, Miranda VFO, Peruzzi L. 2020.** DNA barcoding approach fails to discriminate Central European bladderworts (*Utricularia*, Lentibulariaceae), but provides insights concerning their evolution. *Plant Biosystems* **154**: 326–336.

- Avise JC. 2004.** *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Sunderland-Massachusetts.: Sinauer Associates.
- Azofeifa-Delgado Á. 2006.** Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales el trópico. *Agronomía Mesoamericana* **17**: 221–241.
- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, et al. 2008.** Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE* **3**: 1–7.
- Ballou, J.D.; Frankham, R.; Biscoe DA. 2008.** *Fundamentos de Genética da Conservação*. Ribeirão Preto, Brasil: Sociedade Brasileira de Genética.
- Baral K, Coulman B, Biligetu B, Fu Y-B. 2018.** Genotyping-by-Sequencing Enhances Genetic Diversity Analysis of Crested Wheatgrass [*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn.]. *International Journal of Molecular Sciences* **19**: 1–13.
- Barros D, Albernaz A. 2014.** Possible impacts of climate change on wetlands and its biota in the Brazilian Amazon. *Brazilian Journal of Biology* **74**: 810–820.
- Berdugo-Cely J, Valbuena RI, Sánchez-Betancourt E, Barrero LS, Yockteng R. 2017.** Genetic diversity and association mapping in the Colombian Central Collection of *Solanum tuberosum* L. Andigenum group using SNPs markers (X-Q Li, Ed.). *PLOS ONE* **12**: e0173039.
- Beretta M, Rodondi G, Adamec L, Andreis C. 2014.** Pollen morphology of European bladderworts (*Utricularia* L., Lentibulariaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* **205**: 22–30.
- Bernal Gonzalez RG, Gradstein SR, Celis Pacheco YM. 2016.** *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*. Editorial Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D. C., Colombia.
- BFG. 2018.** Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia* **69**: 1513–1527.
- Bobrov AA, Volkova PA, Kopylov-Guskov YO, Mochalova OA, Kravchuk AE, Nekrasova DM. 2022** Unknown sides of *Utricularia* (Lentibulariaceae) diversity in East Europe and North Asia or how hybridization explained old taxonomical puzzles. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **54**: 125649.
- Bocanegra-González KT, Guillemín M-L. 2018.** Guidelines for the restoration of the tropical timber tree *Anacardium excelsum*: first input from genetic data. *Tree Genetics & Genomes* **14**: 1–12.
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES. 2007.** TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* **23**: 2633–2635.
- Casper SJ, Manitz H. 1975.** Beiträge zur Taxonomie und Chorologie der mitteleuropäischen *Utricularia*-Arten 2. Androsporogenese, Chromosomenzahlen und Pollenmorphologie. *Feddes Repertorium* **86**: 211–232.
- Castillo LP, Osorio A, Vargas N, Sanjuan T, Grajales A, Restrepo S. 2018.** Genetic diversity of the entomopathogenic fungus *Cordyceps tenuipes* in forests and butterfly gardens in Quindío, Colombia. *Fungal Biology* **122**: 891–899.
- Catchen J, Hohenlohe PA, Bassham S, Amores A, Cresko WA. 2013.** Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* **22**: 3124–3140.
- Chung, M.Y., López-Pujol, J., Chung, M.G. 2017.** Lack of allozyme variation in the two carnivorous, terrestrial herbs *Utricularia bifida* and *Utricularia caerulea* (Lentibulariaceae) co-occurring on wetlands in South Korea: Inference of population history. *Korean J. Pl. Taxon.* **47**(4): 297–303.
- Cieslak T, Polepalli JS, White A, et al. 2005.** Phylogenetic analysis of *Pinguicula* (Lentibulariaceae): chloroplast DNA sequences and morphology support several geographically distinct radiations. *American Journal of Botany* **92**: 1723–1736.
- Clivati D, Gitzendanner MA, Hilsdorf AW, Araújo WL, Oliveira de Miranda VF. 2012.** Microsatellite markers developed for *Utricularia reniformis* (Lentibulariaceae). *Am J Bot.* 2012 Sep;99(9):e375–8.
- CONPES 3918. 2018.** *Estrategia para la Implementación de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) en Colombia*. Colombia. < <https://www.minambiente.gov.co/images/CONPESODS.pdf>>. Acessado em 07 de agosto de 2020.
- Danecek P, Auton A, Abecasis G, et al. 2011.** The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*. **27**: 2156–2158.
- Darwin CR. 1875.** *Insectivorous Plants* (J Murray, Ed.). London.
- Davey JW, Blaxter ML. 2010.** RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics* **9**: 416–423.
- Davey JW, Hohenlohe PA, Etter PD, Boone JQ, Catchen JM, Blaxter ML. 2011.** Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics* **12**: 499–510.
- Deva RC. 1953.** The anatomy of the floats of *Utricularia flexuosa* Vahl. *J. Indian Bot. Soc.* **32**: 142–144.
- Earl DA, VonHoldt BM. 2012.** STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* **4**: 359–361.
- Eaton DAR, Overcast I. 2020.** ipyrad: Interactive assembly and analysis of RADseq datasets. *Bioinformatics*. **36**: 2592–2594
- Edgar RC. 2010.** Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. **26**: 2460–2461.
- Eisen JA. 1998.** Phylogenomics: Improving Functional Predictions for Uncharacterized Genes by Evolutionary

Analysis. *Genome Research* **8**: 163–167.

Ellison AM, Adamec L. 2018. *Carnivorous plants: Physiology, ecology, and evolution*. (Eds) Oxford University Press.

Elishire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, et al. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* **6**: 1–10.

Escudero M, Eaton DAR, Hahn M, Hipp AL. 2014. Genotyping-by-sequencing as a tool to infer phylogeny and ancestral hybridization: A case study in *Carex* (Cyperaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **79**: 359–367.

Excoffier L. 2007. Arlequin ver 3.11. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. **10**: 564–567..

Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* **7**: 574–578.

FAO. 2010. *La situación de los recursos zoo genéticos mundiales para la alimentación y la agricultura* (CDRGPPLAY LA AGRICULTURA and ODLNUPLAY LA ALIMENTACIÓN, Eds.). Rome.

Fernández-Pérez A. 1964. Plantas insectívoras, I: Lentibulariáceas de Colombia y Perú. *Caldasia* **9**: 5–84.

Fernández-Pérez A. 1965. Plantas Carnívoras II, Droseraceas de Colombia. *Caldasia* **9**: 221–232..

Fineran BA. 1985. Glandular trichomes in *Utricularia*: A review of their structure and function. *Israel Journal of Botany* **34**: 295–330.

Fleischmann A. 2012a. *A Monograph of the Genus Genlisea*. Poole: Redfern Historia Natural Productions Ltd.

Fleischmann A. 2012b. The New *Utricularia* Species Described Since Peter Taylor's Monograph. *Carnivorous Plant Newsletter* **41**: 67–76.

Fleischmann A, Michael TP, Rivadavia F, et al. 2014. Evolution of genome size and chromosome number in the carnivorous plant genus *Genlisea* (Lentibulariaceae), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms. *Annals of Botany* **114**: 1651–1663.

Fleischmann A, Staatssammlung B, Menzinger M. 2015. Taxonomic *Utricularia* news. *Carnivorous Plant Newsletter* **44**: 2013–2016.

Forster P, Forster L, Renfrew C, Forster M. 2020. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **117**: 9241–9243.

Frankham R. 2003. Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies* **326**: 22–29.

Frankham R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* **126**: 131–140.

Givnish TJ. 2015. New evidence on the origin of carnivorous plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **112**: 10–11.

Gobierno de Colombia; DNP. 2018. *Plan Nacional de Desarrollo 2018 - 2022 "Pacto por Colombia, Pacto por la equidad*. <<https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Resumen-PND2018-2022-final.pdf>> Acessado em 08 de agosto de 2020.

Grace JB. 1993. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. *Aquatic Botany* **44**: 159–180.

Guedes FM, Gonella PM, Domínguez Y, Moreira ADR, Silva SR, Díaz YCA, Fleischmann A, Menezes CG, Rivadavia F, Miranda VFO. *Utricularia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8570>>. Acesso em: 22 set. 2022.

Guichoux E, Lagache L, Wagner S, et al. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* **11**: 591–611.

Hoang DT, Chernomor O, Von Haeseler A, Minh BQ, Vinh LS. 2018. UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*. **35**: 518–522.

Hohenlohe PA, Catchen J, Cresko WA. 2012. Population Genomic Analysis of Model and Nonmodel Organisms Using Sequenced RAD Tags *Methods Molecular Biology*. **888**:235–260.

Hrdina A, Romportl D. 2017. Evaluating Global Biodiversity Hotspots-Very Rich and even More Endangered. *Journal of Landscape Ecology*(Czech Republic).

Hug LA, Baker BJ, Anantharaman K, et al. 2016. A new view of the tree of life. *Nature Microbiology* **1**: 16048.

Huynh K-L. 1968. Étude de la morphologie du pollen du genre *Utricularia* L. *Pollen et Spore* **10**: 11–55.

Ibarra-Laclette E, Lyons E, Hernández-Guzmán G, et al. 2013. Architecture and evolution of a minute plant genome. *Nature* **498**: 94–98.

Iragaba P, Kawuki RS, Bauchet G, et al. 2020. Genomic characterization of Ugandan smallholder farmer-preferred cassava varieties. *Crop Science* **60**: 1450–1461.

Jobson RW, Nielsen R, Laakkonen L, Wikström M, Albert VA. 2004. Adaptive evolution of cytochrome c oxidase: Infrastructure for a carnivorous plant radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 18064–18068.

Jobson RW, Playford J, Cameron KM, Albert VA. 2003. Molecular phylogenetics of Lentibulariaceae inferred from plastid rps16 intron and trnL-F DNA sequences: Implications for character evolution and biogeography. *Systematic Botany* **28**: 157–171.

Jombart T, Ahmed I. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data.

Bioinformatics **27**: 3070–3071.

Joyeux M, Vincent O, Marmottant P. 2011. Mechanical model of the ultrafast underwater trap of *Utricularia*. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics* **83**: 1–12.

Juniper BE, Robins RJ, Joel DM. 1988. The carnivorous plants. *The carnivorous plants*. London, Academic Press.

Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TKF, Von Haeseler A, Jermiin LS. 2017. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*. **14**, 587–589.

Kameyama Y, Toyama M, Ohara M. 2005. Hybrid origins and F1 dominance in the free-floating, sterile bladderwort, *Utricularia australis* f. *australis* (Lentibulariaceae). *American Journal of Botany* **92**: 469–476.

Kameyama, Y., Ohara, M. 2006a. Predominance of clonal reproduction, but recombinant origins of new genotypes in the free-floating aquatic bladderwort *Utricularia australis* f. *tenuicaulis* (Lentibulariaceae). *J Plant Res* **119**, 357–362.

Kameyama, Y., Ohara, M. 2006b. Genetic Structure in Aquatic Bladderworts: Clonal Propagation and Hybrid Perpetuation, *Annals of Botany*, **98** (5), 1017–1024

Kapli P, Yang Z, Telford MJ. 2020. Phylogenetic tree building in the genomic age. *Nature Reviews Genetics* **21**: 428–444.

Król E, Płachno BJ, Adamec L, Stolarz M, Dziubińska H, Trebacz K. 2012. Quite a few reasons for calling carnivores “the most wonderful plants in the world”. *Annals of botany* **109**: 47–64.

Kück P, Longo GC. 2014. FASconCAT-G: Extensive functions for multiple sequence alignment preparations concerning phylogenetic studies. *Frontiers in Zoology*. **11**: 1–8.

Lan T, Renner T, Ibarra-Laclette H, et al. 2017. Long-read sequencing uncovers the adaptive topography of a carnivorous plant genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **114**:201702072.

Lee YG, Jeong N, Kim JH, et al. 2015. Development, validation and genetic analysis of a large soybean SNP genotyping array. *Plant Journal*. **81**: 625–636.

Lee KJ, Lee J-R, Sebastin R, et al. 2019. Genetic Diversity Assessed by Genotyping by Sequencing (GBS) in Watermelon Germplasm. *Genes* **10**: 822.

Lemopoulos A, Prokkoła JM, Uusi-Heikkilä S, et al. 2019. Comparing RADseq and microsatellites for estimating genetic diversity and relatedness — Implications for brown trout conservation. *Ecology and Evolution* **9**: 1–15.

Les DH, Philbrick CT. 1993. Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. *Aquatic Botany* **44**: 181–228.

Li H, Durbin R. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* **25**: 1754–1760.

Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. 2009. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* **25**: 2078–2079.

Lloyd FE. 1976. *The Carnivorous Plants*. New York: Dover Publications, Inc.

Lobreau-Callen D, Jérémie J, Suarez-Cervera M. 1999. Morphologie et ultrastructure du pollen dans le genre *Utricularia* L. (Lentibulariaceae). *Canadian Journal of Botany* **77**: 744–767.

McCune BM, Mefford J. 1999. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Gleneden Beach, Oregon: MjM Software.

McPherson S. 2010. *Carnivorous Plants and their Habitats* (A Fleischmann and A Robinson, Eds.). Poole, Dorset, England: Redfern Historia Natural Productions Ltd.

Melo ATO, Bartaula R, Hale I. 2016. GBS-SNP-CROP: A reference-optional pipeline for SNP discovery and plant germplasm characterization using variable length, paired-end genotyping-by-sequencing data. *BMC Bioinformatics*. **17**: 1–15.

Miller MR, Dunham JP, Amores A, Cresko WA, Johnson EA. 2007. Rapid and cost-effective polymorphism identification and genotyping using restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Research* **17**: 240–248.

Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, et al. 2020. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Molecular Biology and Evolution*. msaa106: 1–7

Miranda VFO, Menezes CG, Silva SR, Díaz YCA, Rivadavia. 2015. *Lentibulariaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*.

Müller KF, Borsch T, Legendre L, Porembski S, Barthlott W. 2006. Recent progress in understanding the evolution of carnivorous Lentibulariaceae (Lamiales). *Plant Biology* **8**: 748–757.

Müller K, Borsch T, Legendre L, Porembski S, Theisen I, Barthlott W. 2004. Evolution of carnivory in lentibulariaceae and the lamiales. *Plant Biology* **6**: 477–490.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. **403**: 853–858.

Oliveira HR, Jacocks L, Czajkowska BI, Kennedy SL, Brown TA. 2020. Multiregional origins of the domesticated tetraploid wheats (A Zhang, Ed.). *PLOS ONE* **15**: e0227148.

Osorio-Guarín JA, Quackenbush CR, Cornejo OE. 2018. Ancestry informative alleles captured with reduced

representation library sequencing in *Theobroma cacao*. *PLOS ONE* **13**: e0203973.

Patané JSL, Martins J, Setubal JC. 2018. Phylogenomics. *Methods in Molecular Biology* **1704**: 103–187.

Peakall R, Smouse PE. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* **28**: 2537–2539.

Pereira-Dias L, Vilanova S, Fita A, Prohens J, Rodríguez-Burruezo A. 2019. Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp.) landraces from the Spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *Horticulture Research* **6**: 1–13.

Philbrick CT, Les DH. 1996. Evolution of Aquatic Angiosperm Reproductive Systems. *BioScience* **46**: 813–826.

Plachno BJ, Adamec L, Kozieradzka-Kiszkurno M, Świątek P, Kamińska I. 2014. Cytochemical and ultrastructural aspects of aquatic carnivorous plant turions. *Protoplasma* **251**: 1449–1454.

Plachno BJ, Adamec L, Świątek P, Kapusta M, Miranda VFO. 2020. Life in the current: Anatomy and morphology of utricularia neottioides. *International Journal of Molecular Sciences* **21**: 1–18.

Plachno BJ, Kozieradzka-Kiszkurno M, Świątek P. 2007. Functional ultrastructure of Genlisea (Lentibulariaceae) digestive hairs. *Annals of Botany* **100**: 195–203.

Plachno BJ, Silva SR, Świątek P, et al. 2020. Structural features of carnivorous plant (Genlisea, utricularia) tubers as abiotic stress resistance organs. *International Journal of Molecular Sciences* **21**: 1–20.

Plachno BJ, Świątek P, Stpicyńska M, Miranda VFO. 2018. Flower palate ultrastructure of the carnivorous plant *Genlisea hispidula* Stapf with remarks on the structure and function of the palate in the subgenus *Genlisea* (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **255**: 1139–1146.

Poppinga S, Weisskopf C, Westermeier AS, Masselter T, Speck T. 2015. Fastest predators in plant kingdom: Functional morphology and biomechanics of suction traps found in the largest genus of carnivorous plants. *AoB Plants*: plv140. 1–25.

Rahman MO. 2006. Evaluation of RAPD markers for taxonomic relationships in some aquatic species of *Utricularia* L. (Lentibulariaceae). *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy* **13**: 73–82.

Rahman MO. 2007. DNA fingerprinting in *Utricularia* L. section *Utricularia* as revealed by PCR based assay. *International Journal of Botany* **3**: 56–63.

Refulio-Rodriguez NF, Olmstead RG. 2014. Phylogeny of Lamiidae. *American Journal of Botany* **101**: 287–299.

Reifenrath K, Theisen I, Schnitzler J, Porembski S, Barthlott W. 2006. Trap architecture in carnivorous *Utricularia* (Lentibulariaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **201**: 597–605.

Rutishauser R. 1993. The developmental plasticity of *Utricularia aurea* (Lentibulariaceae) and its floats. *Aquatic Botany* **45**: 119–143.

Santa JD, Berdugo-Cely J, Cely-Pardo L, Soto-Suárez M, Mosquera T, Galeano M. CH. 2018. QTL analysis reveals quantitative resistant loci for *Phytophthora infestans* and *Tecia solanivora* in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) (C Chen, Ed.). *PLOS ONE* **13**: e0199716.

Schäferhoff B, Fleischmann A, Fischer E, et al. 2010. Towards resolving lamiales relationships: Insights from rapidly evolving chloroplast sequences. *BMC Evolutionary Biology* **10**: 1–22.

Schierenbeck KA. 2017. Population-level genetic variation and climate change in a biodiversity hotspot. *Annals of Botany* **119**: 215–228.

Schlötterer C. 2004. Opinion: The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics* **5**: 63–69.

Shirakawa J, Nagano K, Hoshi Y. 2012. Polyploid genome structure of *Drosera spatulata* complex (Droseraceae). *Cytologia* **77**: 97–106.

Silva SR, Gibson R, Adamec L, Domínguez Y, Miranda VFO. 2018. 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.

Sirová D, Borovec J, Pícek T, Adamec L, Nedbalová L, Vrba J. 2011. Ecological implications of organic carbon dynamics in the traps of aquatic carnivorous *Utricularia* plants. *Functional Plant Biology* **38**: 583–593.

Taylor P. 1989. *The Genus Utricularia – A Taxonomic Monograph*. Kew, London: Royal Botanic Gardens.

Taylor P. 1991. The genus *Genlisea*. *Carnivorous Plant Newsletter* **20**: 20–26.

The Brazil Flora Group. 2015. Growing knowledge: An overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguesia*. **66**: 1085–1113.

Thor G. 1988. The Genus *Utricularia* in the Nordic Countries, with Special Emphasis on *Utricularia stygia* and *Utricularia ochroleuca*. *Nordic Journal of Botany* **8**: 213–225.

Torrado H, Carreras C, Raventos N, Macpherson E, Pascual M. 2020. Individual-based population genomics reveal different drivers of adaptation in sympatric fish. *Scientific Reports* **10**: 1–14.

Veleba A, Bureš P, Adamec L, Šmarda P, Lipnerová I, Horová L. 2014. Genome size and genomic GC content evolution in the miniature genome-sized family Lentibulariaceae. *New Phytologist* **203**: 22–28.

Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* **34**: 275–305.

Vincent O, Weißkopf C, Poppinga S, et al. 2011. Ultra-fast underwater suction traps. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278**: 2909–2914.

- Westermeier AS, Fleischmann A, Müller K, et al. 2017.** Trap diversity and character evolution in carnivorous bladderworts (Utricularia, Lentibulariaceae). *Scientific Reports* **7**: 1–24.
- Whitewoods CD, Gonçalves B, Cheng J, et al. 2020.** Evolution of carnivorous traps from planar leaves through simple shifts in gene expression. *Science* **367**: 91–96.
- Wong MML, Gujaria-Verma N, Ramsay L, et al. 2015.** Classification and Characterization of Species within the Genus *Lentibularia* Using Genotyping-by-Sequencing (GBS) *PLOS ONE* **10**: e0122025.
- WWF World Wide Fund for Nature. 2018.** *Relatório planeta vivo 2018*. <https://d3nehc6yl9qzo4.cloudfront.net/downloads/lpr2018_full_report_spreads.pdf>. Acessado em 02 de agosto de 2020. - español.
- Young AD, Gillung JP. 2020.** Phylogenomics — principles, opportunities and pitfalls of big-data phylogenetics. *Systematic Entomology* **45**: 225–247.