

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO DE GENES NUCLEARES PARA FILOGENIA E
PLASTOMA DE LENTIBULARIACEAE**

Afonso Pinto Fançony

Engenheiro Agrônomo

2024

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

**AVALIAÇÃO DE GENES NUCLEARES PARA FILOGENIA E
PLASTOMA DE LENTIBULARIACEAE**

Afonso Pinto Fançony

Orientador: Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda

Coorientadora: Dra. Saura Rodrigues da Silva

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

2024

F199a Fançony, Afonso Pinto
Avaliação de genes nucleares para filogenia e plastoma de
Lentibulariaceae / Afonso Pinto Fançony. -- Jaboticabal, 2024
81 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal

Orientador: Vitor Fernandes Oliveira de Miranda
Coorientadora: Saura Rodrigues da Silva

1. Lentibulariaceae. 2. Filogenia. 3. Genlise-Utricularia. 4.
Plastoma de Pinguicula. 5. Genes nucleares. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DE GENES NUCLEARES PARA FILOGENIA E PLASTOMA DE LENTIBULARIACEAE

AUTOR: AFONSO PINTO FANÇONY

ORIENTADOR: VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

COORDENADORA: SAURA RODRIGUES DA SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela Comissão Examinadora:

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

Dr. GUILHERME CAMARA SEBER (Participação Presencial)
Seber Ltda - Comércio de Café Brasil / Torrinha/SP

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

Jaboticabal, 29 de fevereiro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

AFONSO PINTO FANÇONY, nascido em 30 de janeiro de 1991 na cidade no Município do Amboim, Província do Cuanza Sul (Angola), filho de Augusto Fançony e Mecilia Pinto. É Engenheiro Agrônomo graduado pelo Instituto Superior Politécnico do Cuanza Sul (Angola), com ingresso em março de 2012 e término em agosto de 2017. Em agosto de 2021 ingressou no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), nível mestrado, área de concentração em Genética e Biologia Evolutivas, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Okwijiva kwafumbu okwaha

Tradução: O saber suplanta a beleza

Interpretação: Não basta ter beleza é preciso lutar pela aprendizagem para aumentar a sua elegância

Ka mwinle ongongo ka kolele

Tradução: Quem não sofreu não amadureceu.

Interpretação: A aprendizagem, exige sacrifício

MUEZU UA MUADIAKIMI, A-U-SUNGA NI NDUNGE

Tradução: Barbas de homem respeitável, com jeito se puxam

Interpretação: Com brandura tudo se consegue, basta só o desejo e o sacrifício para ir ao encontro das coisas.

(In provérbios angolanos)

À minha recente falecida avó, **Isabel António**, mãe de minha mãe,
pelos ensinamentos e conselhos transmitidos e que não pude estar
com ela nos últimos dias de sua vida, para ela, eu

OFEREÇO

À **Aziela Alberto Fançony**, mãe do meu pai,
que muito precisou e precisa de mim, a ti eu

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A dissertação de mestrado além de muita responsabilidade exige muita dedicação e persistência. A sua realização, só foi possível através da entrega e colaboração de diferentes pessoas e entidades, pelas quais dirijo o meu sincero reconhecimento:

A Deus, pelo seu amor infinito, por me amparar nos momentos difíceis, pelas oportunidades que colocou em minha vida, por ser o autor do meu destino, meu guia, protetor e por nunca ter me abandonado. Eu creio na sua existência. Além disso, agradeço a Deus por ter arquitetado de uma forma exuberante o meio ambiente, principalmente os vegetais pelas quais me apaixono todos os dias e que tem sido o foco da minha pesquisa. Pois “*Deus cria, e o homem classifica*”.

A toda minha família, principalmente ao casal Augusto Fançony e Mecilia Pinto, por serem meus maiores exemplos de superação. Apesar da distância continental que nos separa, sempre estiveram comigo, velando pela minha saúde psicológica. Agradeço por sempre me apoiarem nas minhas decisões e sonhos, e por estarem compartilhando dessa minha jornada, ajudando a me manter segura e firme sempre nos momentos que sempre precisei. Vocês são os maiores orgulhos da minha vida.

Aos meus orientadores, na pessoa do Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda e da Dra. Saura Rodrigues Silva, por me terem aceitado como orientando e me mostrarem o caminho para trilhar a vida acadêmica, científica e profissional. Os conhecimentos que recebi persistentemente sobre Biologia molecular, Bioinformática, Genômica e Filogenia, me fazem enxergar que já sou um novo diamante lapidado para o mercado. Grandes amigos que levarei para vida toda.

A toda equipe do Laboratório de Sistemática Vegetal (LSV) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da UNESP-Jaboticabal, pelos momentos vividos quer seja científico-profissional, como os de níveis culturais e de lazer, pois cada um segundo a sua particularidade marcou o meu coração.

Aos responsáveis, pesquisadores e técnicos do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada, pela disponibilização da infraestrutura para a realização das análises moleculares (PCR e Eletroforese).

Aos professores Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro e Prof. Dr. Alessandro Mello Varani pelas discussões e sugestões levantadas no Exame de Qualificação.

Ao Instituto Nacional de Bolsa de Estudo de Angola (INAGBE), pela concessão da bolsa de estudo e ao Instituto Superior Politécnico do Cuanza Sul (Angola), pela dispensa de formação.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pelas disciplinas cursadas e outras questões inerente a minha formação.

Aos meus amigos de Angola e aos africanos residentes em Jaboticabal, com os quais dividi segredos, momentos de descontração e boas gargalhadas, pois foram também foram essenciais para que aqui chegasse.

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

Agradeço fortemente a qualquer outra pessoa que tenha colaborado de forma direta ou indireta para o desenvolvimento deste trabalho.

O meu muito obrigado!

SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS	viii
SUMÁRIO	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1- Introdução geral	1
2- Revisão da literatura	4
2.1- Considerações sobre família Lentibulariaceae Rich.	4
2. 1.1- Gênero <i>Pinguicula</i> L.	5
2. 1.2- Gênero <i>Genlisea</i> A.St.-Hil.....	7
2. 1.3- Gênero <i>Utricularia</i> L.....	9
2.2- Considerações sobre genoma na taxonomia de Lentibulariaceae.....	11
Referências bibliográficas	12
CAPÍTULO 2- Phylogeny of <i>Genlisea-Utricularia</i> (Lentibulariaceae) based on alcohol dehydrogenase and nitroreductase genes.	20
Abstract.....	20
1- Introduction	21
2- Materials and methods.....	24
2.1- Obtaining gene sequences, domains and residues	24
2.2- Structural modeling and prediction of gene motifs	25
2.3- Phylogenetic analyses of the alcohol dehydrogenase and nitroreductase genes	25
3- RESULTS	26
3.1- Gene identification and characterisation	26
3.1.1- Alcohol dehydrogenase	26
3.1.2- Nitroreductase.....	30

3.2- Phylogenetic analyses of alcohol dehydrogenase and nitroreductase genes in Lentibulariaceae.....	32
4- Discussion.....	35
5- Conclusion	39
References.....	40
CAPÍTULO 3- Comparative analysis of the chloroplast genome of <i>Pinguicula moranensis</i> Kunth (Lentibulariaceae)	48
Abstract.....	48
1- Introduction	49
2- Materials and methods.....	51
2.1- Assembly and annotation of the chloroplast genome <i>Pinguicula moranensis</i>	51
2.2- Identity and synteny analyses	52
2.3- Repetitive regions	52
2.3- Phylogenetic reconstruction of <i>Pinguicula moranensis</i>	52
3- Results and discussion	54
3.1- Genome structure and content.....	54
3.1.1- List of genes encoded by the <i>Pinguicula moranensis</i> ptDNA.....	56
3.2- Analysis of identity or variation of genes in the genome	58
3.3- Analysis of repeats in the genome	60
3.4- Phylogenetic hypothesis of <i>Pinguicula moranensis</i> within Lentibulariaceae	68
3.3.1- Phylogenetically informative characters (PICs).....	70
4- Conclusions	71
References.....	72
CONSIDERAÇÕES FINAIS	81

AVALIAÇÃO DE GENES NUCLEARES PARA FILOGENIA E PLASTOMA DE LENTIBULARIACEAE

RESUMO

As relações filogenéticas dos gêneros *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil. e *Utricularia* L. dentro da família Lentibulariaceae foram bem estudadas. Pesquisas indicam um grupo monofilético, no qual *Pinguicula* é irmão do clado *Genlisea-Utricularia*. Porém, algumas lacunas entre os gêneros ainda existem. Essas incluem as delimitações e relações entre seções ou subgêneros e circunscrição infra-genérica, principalmente as espécies descobertas recentes. Além disso, as espécies desta família, apresentam uma grande variedade de habitats, formas de vida, mecanismos e especializações de captura das presas e características fenotípicas, o que aumenta a dificuldade de identificação, sobretudo no uso exclusivo de características morfológicas. As abordagens filogenéticas embasadas em caracteres moleculares com os genes nucleares e plastoma podem contribuir nas discrepâncias taxonômicas da família. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivos principais (i) testar os genes álcool desidrogenase e nitroreductase para filogenia de *Genlisea* e *Utricularia* (Lentibulariaceae) e (ii) montar e caracterizar o plastoma de *Pinguicula moranensis*. Tanto os genes nucleares como o genoma de cloroplasto de *Pinguicula moranensis* foram caracterizados nesse estudo. Nossos resultados abrem pistas que contribuem para discussões evolutivas dos genes álcool desidrogenase e nitroreductase nas espécies de Lentibulariaceae. Além disso, o nosso estudo apresenta pela primeira vez o plastoma montado de *Pinguicula moranensis* e fornece novos *insights* para a compreensão sobre a evolução, filogenia e genômica de Lentibulariaceae.

Palavras chaves: Angiospermas, evolução, filogenia molecular, genoma, ptDNA

EVALUATION OF NUCLEAR GENES FOR LENTIBULARIACEAE PHYLOGENY AND CHLOROPLAST GENOME

ABSTRACT

The phylogenetic relationships of the genera *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil., and *Utricularia* L. within the Lentibulariaceae family have been well studied. Research indicates a monophyletic group, in which *Pinguicula* is sister to the *Genlisea-Utricularia* clade. However, some gaps between the genera still exist. These include the delimitations and relationships between sections or subgenera and infra-generic circumscriptions, especially for recently discovered species. Additionally, species in this family exhibit a wide variety of habitats, life forms, prey capture mechanisms, and phenotypic characteristics, which increases the difficulty of identification, especially when relying solely on morphological characteristics. Phylogenetic approaches based on molecular characters with nuclear and plastome genes can contribute to taxonomic discrepancies within the family. Therefore, the present study aimed to (i) test the alcohol dehydrogenase and nitroreductase genes for the phylogeny of *Genlisea* and *Utricularia* (Lentibulariaceae) and (ii) assemble and characterize the plastome of *Pinguicula moranensis*. Both the nuclear genes and the chloroplast genome of *Pinguicula moranensis* were characterized in this study. Our results provide clues that contribute to evolutionary discussions of the alcohol dehydrogenase and nitroreductase genes in Lentibulariaceae species. Additionally, our study presents for the first time the assembled plastome of *Pinguicula moranensis* and provides new insights into understanding the evolution, phylogeny, and genomics of Lentibulariaceae.

Key-words: Angiosperms, Evolution, Molecular phylogeny, genome; ptDNA

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1- Introdução geral

A monofilia da família Lentibulariaceae Rich (Lamiales) encontra-se totalmente resolvida quanto à posição filogenética dos seus três gêneros constituintes (*Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil., and *Utricularia* L.). Pois, diversos estudos baseados em caracteres morfológicos, moleculares atestam e comprovam esta abordagem (Taylor, 1989; Müller et al., 2004 e 2006; Silva et al., 2018a; Fonseca, 2021). No entanto, do ponto de vista taxonômico, especialmente nos táxons pertencentes ao clado *Genlisea - Utricularia*, ainda existem algumas lacunas que necessitam ser resolvidas. Isso inclui a definição taxonômica de seções ou subgêneros, identificação imprecisa e as relações entre espécies em nível infragenérico (Jobson et al., 2003; Müller e Borsch, 2005; Bobrov et al., 2017; Westermeier et al., 2017; Silva et al., 2018a e 2023; Shimai et al., 2021). Além disso, a crescente descoberta de novas espécies pertencente à família Lentibulariaceae pode provocar alterações ao perfil filogenético ou atualizações na taxonomia, quer seja intra ou extra seções, visto que as espécies desta família são caracterizadas pela diversidade fenotípica, *habitats* e formas de vida.

Essas lacunas destacam a importância de realizar pesquisas taxonômicas mais abrangentes nos três gêneros que constituem a família Lentibulariaceae. Entretanto, com base nas iniciativas tecnológicas, em particular no sequenciamento genômico, diversas técnicas têm sido empregadas para promover a identificação de táxons mais confiáveis e a reconstrução de hipóteses filogenéticas sólidas, contribuindo assim para uma taxonomia natural e mais defensável (Silva et al., 2018a). Os caracteres moleculares, combinados com ferramentas atuais baseadas em sistemática filogenética, podem ser muito úteis para sugestões nas delimitações taxonômicas, evolução, circunscrição dos gêneros de Lentibulariaceae e outras famílias de angiospermas.

Nos últimos anos, espécies de Lentibulariaceae foram sequenciadas (DNA cloroplastidial, nuclear e mitocondrial), sendo que algumas dessas possuem seus genomas montados e caracterizados (Wicke et al., 2013; Ibarra-Laclette et al., 2013; Silva

et al., 2016, 2018a, 2018 e 2019; Li e Liu, 2022; Matos et al., 2022). O que tem possibilitado a identificação e seleção dos genes úteis para estudos filogenéticos e evolutivos das espécies da família. Além disso, as funções e as estruturas desses genes têm ajudado a esclarecer os padrões taxonômicos e evolutivos, bem como as características específicas, como características fenotípicas e adaptação em ambientes adversos.

Os representantes da família Lentibulariaceae, principalmente as espécies do clado *Genlisea-Utricularia*, possuem os menores genomas nucleares dentre todas as angiospermas sequenciadas até o presente momento, *Genlisea tuberosa* (61 Mpb, *Genlisea aurea* (63,6 Mb) e *Utricularia gibba* (100 Mb) respectivamente (Ibarra-Laclette et al., 2013; Lan et al., 2017), além de possuírem altas taxas de mutação nos seus compartimentos intracelulares (Greilhuber et al., 2006; Silva et al., 2023), tornando-as fortes candidatas para modelos em estudos sobre filogenia e evolução.

Em Spermatophyta, incluindo Lentibulariaceae, como em todas as angiospermas, os genes cloroplastidiais e nucleares têm sido os mais utilizados em estudos sobre filogenia de espécies e história evolutiva genética, em detrimento dos genes mitocondriais (Palmé et al., 2009; Cai e Ma et al., 2016; Silva et al., 2016, 2018a 2018 e 2019; Fonseca, 2021; Li e Liu, 2022).

Os genes nucleares apresentam vantagens para filogenia por possuírem herança biparental, possibilitando o resgate da ancestralidade completa das gerações (Small et al., 2004; Palmé et al., 2009; Cai e Ma et al., 2016; Huang et al., 2023; Zhang et al., 2024). Adicionalmente, alguns genes do compartimento nuclear demonstram taxas evolutivas consideravelmente elevadas, proporcionando uma maior precisão na distinção entre espécies intimamente relacionadas (Wolfe et al., 1987). É importante destacar que os genes nucleares de angiospermas sofrem poliploidia ou duplicações, o que permite o surgimento de genes homólogos quer seja artólogo ou parálogos, com dificuldade de identificação (Soltis et al., 2011; Guo et al., 2023). Portanto, torna-se importante avaliar

que genes nucleares se tornam viáveis e congruentes para estudos filogenéticos nos organismos fotossintéticos (Cai e Ma et al., 2016).

Os plastomas são fundamentais para a filogenia e outros estudos genômicos, pois apresentam um elevado grau de polimorfismo e conservação genética, facilitando para o desenvolvimento de códigos de barras genéticos, estudos de genética populacional, reconstrução de árvores filogenéticas de alta resolução e conservação de espécies ameaçadas e resolução de discrepâncias taxonômicas (Downiwe e Palmer 1992; Daniell et al., 2016; Robbins e Kelly, 2023). Esses genomas têm sido bem explorados por diversos pesquisadores e estudos publicados recentemente revelam uma quantidade de >13.000 sequências depositadas e/ou publicadas no banco de dados público do NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Wang et al., 2024). Porém para a família Lentibulariaceae há poucas sequências genômicas de plastoma, sendo apenas 7 para *Genlisea* e 7 para *Utricularia* (Silva et al., 2023). *Pinguicula* é o que menos registrou investigações de plastoma com quatro sequências publicadas, *Pinguicula vulgaris* L. (NC_084256.1), *Pinguicula jackii* Barnhart (NC_068629.1), *Pinguicula ehlersiae* Speta & F.Fuchs (Wicke et al., 2013) e *Pinguicula alpina* L. (Li e Liu, 2022), sendo as duas últimas com seus genomas cloroplastidiais montados e caracterizados.

Nesse contexto, diante da relevância da filogenia na classificação de plantas, juntamente com a utilidade de Lentibulariaceae como modelo para estudos filogenômicos e evolutivos e de outra natureza, esta dissertação teve como objetivos, divididos em dois capítulos:

Capítulo 1: Testar os genes álcool desidrogenase e nitrorredutase para filogenia de *Genlisea* e *Utricularia* (Lentibulariaceae)

Capítulo 2: Montar e caracterizar o plastoma de *Pinguicula moranensis* e inferir sua posição filogenética dentro da família Lentibulariaceae;

4- Conclusions

For the first time, the ptDNA genome of *Pinguicula moranensis* was assembled and evaluated through this study, which contributed to updating the genomic data on Lentibulariaceae. Our results place the ptDNA genome of *P. moranensis* (147,072 bp) as the smallest within the genus, when compared to previously published taxa. The

quadripartite structure, genetic material, and genomic composition do not differ much from the other chloroplast genomes in the family published so far. In addition, we compared the newly assembled genome with the sequences of *P. vulgaris* and *P. jackii* in terms of degree of identity and repeats. Regarding identity, the results indicate highly conserved and similar structures between the species, with non-significant divergences only in the spacer regions, RNA transporter genes, inverted region genes, and genes of the NDH complex, which is typical in the genomes of Lentibulariaceae species. Regarding palindromic repetitions in *P. vulgaris*, there is some divergence. The phylogenetic analyses reveal a close relationship between *P. moranensis* and *P. jackii*, corroborating other authors based on geographical hypotheses.

These results awaken new research visions to understand the evolution and biogeography of different taxa of this family and contribute to the taxonomic resolution of *Pinguicula*, which has been undergoing strong updates and debate in scientific literature.

References

- ADAMEC, L.; MATUŠÍKOVÁ, I.; PAVLOVIČ, A. Recent ecophysiological, biochemical and evolutionary insights into plant carnivory. **Annals of Botany**, v. 128, n. 3, p. 241–259, 2021
- AKAIKE, H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov, B.N. & Csaki, F. (Eds). **Second International Symposium on Information Theory**. Budapest: Akademiai Kiado. pp. 267–281, 1974.
- ALBERT, V. A.; JOBSON, R. W.; MICHAEL, T. P.; *et al.* The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): a system inflates. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 1, p. 5–9, 2009.
- ALCALÁ, R. E.; DOMÍNGUEZ, C. A. Differential selection for carnivory traits along an environmental gradient *Pinguicula moranensis*. *Ecology*, 86(10), 2005, pp. 2652–2660. **Ecology**, v. 86, n. 10, p. 2652–2660, 2005.

ARANGUREN-DÍAZ, Y. C.; VARANI, A. M.; MICHAEL, T. P.; *et al.* Development of microsatellite markers for the carnivorous plant *Genlisea aurea* (Lentibulariaceae) using genomics data of NGS. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 1, p. 57–61, 2017.

BEIER, S.; THIEL, T.; MÜNCH, T.; *et al.* MISA-web: a web server for microsatellite prediction. **Bioinformatics**, v. 33, n. 16, p. 2583–2585, 2017.

CASPER, S. J.; STIMPER, R. Chromosome numbers in *Pinguicula* (Lentibulariaceae): survey, atlas, and taxonomic conclusions. **Plant Systematics and Evolution**, v. 277, n. 1–2, p. 21–60, 2009.

CASPER, S. J. Monographie der Gattung *Pinguicula* L. Bibliotheca Botanica v. 127-128, n. 1, p. 123–145, 1966.

CIESLAK, T.; POLEPALLI, J. S.; WHITE, A.; *et al.* Phylogenetic analysis of *Pinguicula* (Lentibulariaceae): chloroplast DNA sequences and morphology support several geographically distinct radiations. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 10, p. 1723–1736, 2005.

CLIVATI, D.; GITZENDANNER, M. A.; HILSDORF, A. W. S.; *et al.* Microsatellite markers developed for *Utricularia reniformis* (Lentibulariaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, n. 9, 2012.

CORRÊA, M. A., MAMEDE, M. C. H. Lentibulariaceae In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Giulietti, A.M., Melhem, T.S., Bittrich, V., Kameyama, C. (eds.) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 2. ISBN 85-7523-053-0, 2002.

DANIELL, H.; LIN, C.; YU, M.; *et al.* Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. **Genome Biology**, v. 17, n. 1, 2016.

DEGTJAREVA, G. V.; SOKOLOFF, D. D. Inflorescence morphology and flower development in *Pinguicula alpina* and *P. vulgaris* (Lentibulariaceae: Lamiales): monosymmetric flowers are always lateral and occurrence of early sympetaly. **Organisms**

Diversity & Evolution, v. 12, n. 2, p. 99–111, 2012.

DEGTJAREVA, G. V.; CASPER, S. J.; HELLWIG, F. H.; *et al.* Morphology and nrITS Phylogeny of the Genus *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae), with Special Attention to Embryo Evolution. **Plant Biology**, v. 8, n. 6, p. 778–790, 2006.

DOMÍNGUEZ, Y.; PANFET, V. C. M.; DE MIRANDA, V. F. O. New features of Cuban endemic *Pinguicula filifolia* (Lentibulariaceae) and considerations on its habitat and ecology. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 11, p. 838–841, 2012.

DOMÍNGUEZ, Y.; SILVA, S. R.; PANFET VALDÉS, C. M.; *et al.* Inter- and intra-specific diversity of Cuban *Pinguicula* (Lentibulariaceae) based on morphometric analyses and its relation with geographical distribution. **Plant Ecology & Diversity**, v. 7, n. 4, p. 519–531, 2013.

DOMINGUEZ, Y.; TEMPLE, P.; PANČO, I.; *et al.* Biogeographical Patterns of *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae) in the Americas Revealed by Endemicity and Potential Distribution Analyses. [s.l.]: **Elsevier BV**, 2023. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4500281>.

DOWNIE, S. R.; PALMER, J. D. Use of Chloroplast DNA Rearrangements in Reconstructing Plant Phylogeny. *In*: **Molecular Systematics of Plants**. Boston, MA: Springer US, 1992, p. 14–35

ELLISON, A. M, ADAMEC, L. 2018. Introduction: what is a carnivorous plant? *In*: Adamec L, Ellison AM eds. *Carnivorous Plants: Physiology, Ecology, and Evolution*. London: **Oxford University Press**.p.3-6, 2018

FLEISCHMANN, A. On the infrageneric classification of *Pinguicula*. **Carnivorous Plant Newsletter**, v. 50, n. 4, p. 174–188, 2021.

FRAZER, K. A.; PACHTER, L.; POLIAKOV, A.; *et al.* VISTA: computational tools for comparative genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. Web Server, p. W273–W279, 2004.

GROB, V.; PFEIFER, E.; RUTISHAUSER, R. Sympodial Construction of Fibonacci-type Leaf Rosettes in *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). **Annals of Botany**, v. 100, n. 4, p. 857–863, 2007.

HOANG, D. T.; CHERNOMOR, O.; VON HAESELER, A.; *et al.* UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 2, p. 518–522, 2017.

HOLLINGSWORTH, P. M. Refining the DNA barcode for land plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 49, p. 19451–19452, 2011.

JIN, J. J.; YU, W. B.; YANG, J. B.; *et al.* GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes. **Genome Biology**, v. 21, n. 1, 2020.

JOBSON, R. W.; ALBERT, V. A. Molecular Rates Parallel Diversification Contrasts between Carnivorous Plant Sister Lineages¹. **Cladistics**, v. 18, n. 2, p. 127–136, 2002.

KALYAANAMOORTHY, S.; MINH, B. Q.; WONG, T. K. F.; *et al.* ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature Methods**, v. 14, n. 6, p. 587–589, 2017.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in Bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160–1166, 2017.

KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; *et al.* Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 2012.

KÜCK, P.; LONGO, G. C. FASconCAT-G: extensive functions for multiple sequence alignment preparations concerning phylogenetic studies. **Frontiers in Zoology**, v. 11, n. 1, 2014.

KURTZ, S. REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 22, p. 4633–4642, 2001.

LAGESEN, K.; HALLIN, P.; RØDLAND, E. A.; *et al.* RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 9, p. 3100–3108, 2007.

LEGENDRE, L. The genus *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae): an overview. **Acta Botanica Gallica**, v. 147, n. 1, p. 77–95, 2013.

LETUNIC, I.; BORK, P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W293–W296, 2021.

LI, J.; LIU, Z. L. Complete chloroplast genome sequence of the carnivorous herb *Pinguicula alpina* (Lentibulariaceae). **Mitochondrial DNA Part B**, v. 7, n. 6, p. 1061–1062, 2022.

LOHSE, M.; DRECHSEL, O.; KAHLAU, S.; *et al.* OrganellarGenomeDRAW—a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. W1, p. W575–W581, 2013.

LOPES, A. S.; GOMES, P. T.; NASCIMENTO, S. O.; *et al.* Plastid genome evolution in Amazonian açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) and Atlantic forest açai palm (*Euterpe edulis* Mart.). **Plant Molecular Biology**, v. 105, n. 4–5, p. 559–574, 2021.

LUSTOFIN, K.; ŚWIĄTEK, P.; STOLARCZYK, P.; *et al.* Do food trichomes occur in *Pinguicula* (Lentibulariaceae) flowers? **Annals of Botany**, v. 126, n. 6, p. 1039–1048, 2020.

MÜLLER, K.; BORSCH, T.; LEGENDRE, L.; *et al.* Evolution of Carnivory in Lentibulariaceae and the Lamiales. **Plant Biology**, v. 6, n. 4, p. 477–490, 2004.

NGUYEN, L. T.; SCHMIDT, H. A.; VON, H. A.; *et al.* IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. **Molecular**

Biology and Evolution, v. 32, n. 1, p. 268–274, 2014.

PALMER, J. D. Comparative organization of chloroplast genomes. **Annual Review of Genetics**, v. 19, n. 1, p. 325–354, 1985.

PARK, J.; XI, H.; KIM, Y.; *et al.* The complete chloroplast genome of *Utricularia tenuicaulis* Miki (Lentibulariaceae) isolated in Korea. **Mitochondrial DNA Part B**, v. 7, n. 6, p. 1143–1145, 2022.

Procko, C; Chory, J; and Pirro, S. The Genome Sequences of 17 Species of Carnivorous Plants. *Biodiversity Genomes*, November, 2023.

ROBBINS, E. H. J; KELLY, S. The Evolutionary Constraints on Angiosperm Chloroplast Adaptation. **Genome Biology and Evolution**, v. 15, n. 6, 2023.

RODONDI, G.; BERETTA, M.; ANDREIS, C. Pollen morphology of alpine butterworts (*Pinguicula* L., Lentibulariaceae). **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 162, n. 1, p. 1–10, 2010.

RUEDA-ALMAZÁN, J. E.; HERNÁNDEZ, V. M.; ALCALÁ. M. J. R.; *et al.* Spatial and temporal differences in the community structure of endophytic fungi in the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). **Fungal Ecology**, v. 53, p. 101087, 2021.

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**, v. 117, n. 5, p. 811–832, 2015.

SALTONSTALL, K.; LAMBERTINI, C. The value of repetitive sequences in chloroplast DNA for phylogeographic inference: A comment on Vachon & Freeland 2011. **Molecular Ecology Resources**, v. 12, n. 4, p. 581–585, 2012.

SHIMAI, H.; SETOGUCHI, H.; ROBERTS, D. L.; *et al.* Correction: Biogeographical patterns and speciation of the genus *Pinguicula* (Lentibulariaceae) inferred by phylogenetic analyses. **PLOS ONE**, v. 16, n. 12, p. e0261600, 2021.

SILVA, S.R.; PINHEIRO, D. G.; MEER, E. J.; *et al.* The complete chloroplast genome sequence of the leafy bladderwort, *Utricularia foliosa* L. (Lentibulariaceae). **Conservation Genetics Resources**, v. 9, n. 2, p. 213–216, 2016a.

SILVA, S. R.; DIAZ, Y. C. A.; PENHA, H. A.; *et al.* The Chloroplast Genome of *Utricularia reniformis* Sheds Light on the Evolution of the *ndh* Gene Complex of Terrestrial Carnivorous Plants from the Lentibulariaceae Family. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0165176, 2016.

SILVA, S. R.; ALVARENGA, D. O.; ARANGUREN, Y.; *et al.* The mitochondrial genome of the terrestrial carnivorous plant *Utricularia reniformis* (Lentibulariaceae): Structure, comparative analysis and evolutionary landmarks. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0180484, 2017.

SILVA, S. R.; MICHAEL, T. P.; MEER, E. J.; *et al.* Comparative genomic analysis of *Genlisea* (corkscrew plants-entibulariaceae) chloroplast genomes reveals an increasing loss of the *ndh* genes. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p. e0190321, 2018a.

SILVA, S. R.; GIBSON, R.; ADAMEC, L.; *et al.* Molecular phylogeny of bladderworts: A wide approach of *Utricularia* (Lentibulariaceae) species relationships based on six plastidial and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 118, p. 244–264, 2018.

SILVA, S. R.; PINHEIRO, D. G.; PENHA, H. A.; *et al.* Intraspecific Variation within the *Utricularia amethystina* Species Morphotypes Based on Chloroplast Genomes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6130, 2019.

SILVA, S. R.; PŁACHNO, B. J.; CARVALHO, S. G. M.; *et al.* *Genlisea hawkingii* (Lentibulariaceae), a new species from Serra da Canastra, Minas Gerais, Brazil. **PLOS ONE**, v. 15, n. 1, p. e0226337, 2020.

SILVA, S. R.; MIRANDA, V. F. O.; MICHAEL, T. P.; *et al.* The phylogenomics and evolutionary dynamics of the organellar genomes in carnivorous *Utricularia* and *Genlisea* species (Lentibulariaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 181, p. 107711, 2023.

SWOFFORD, D. L. PAUP. **Phylogenetic Analysis Using Parsimony** (*and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, 1999.

TAYLOR, P. The Genus *Utricularia* - A Taxonomic Monograph. Kew Bulletin Additional Series XIV. Royal Botanic Gardens, Kew: London, 1989.

TEMPLE, P.; PANČO, I.; VALDÉS, C. M. P.t; *et al.* *Pinguicula lithophytica* is not conspecific with *Pinguicula jaraguana* or a variety of *Pinguicula jackii*. **Carnivorous Plant Newsletter**, v. 52, n. 2, p. 68–83, 2023.

TILLICH, M.; LEHWARK, P.; PELLIZZER, T.; *et al.* GeSeq – versatile and accurate annotation of organelle genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W6–W11, 2017.

VILLEGAS, S. G.; ALCALÁ, R. E. Reproductive ecology of the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). **Plant Biology**, v. 20, n. 2, p. 205–212, 2017.

WANG, J.; KAN, S.; LIAO, X.; *et al.* Plant organellar genomes: much done, much more to do. **Trends in Plant Science**, 2024.

WICKE, S.; SCHÄFERHOFF, B.; DEPAMPHILIS, C. W.; *et al.* Disproportional Plastome-Wide Increase of Substitution Rates and Relaxed Purifying Selection in Genes of Carnivorous Lentibulariaceae. **Molecular Biology and Evolution**, v. 31, n. 3, p. 529–545, 2013.

WOOD, D. E.; LU, J.; LANGMEAD, B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, 2019.

XU, S; TENG, K.; ZHANG, H.i; *et al.* Chloroplast genomes of four *Carex* species: Long repetitive sequences trigger dramatic changes in chloroplast genome structure. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.

ZAMUDIO, R.S., RZEDOWSKI, J. Dos especies nuevas de *Pinguicula* (Lentibulariaceae) del estado de Oaxaca, Mexico. **Acta Botanica Mexicana**.;14:23–32, 1991.

ZAMUDIO, R. S. **Revision de la Orcheosanthus del género *Pinguicula* (Lentibulariaceae)**. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2001.

ZAMUDIO, R. S. Notas sobre la identidad de *Pinguicula moranensis* H. B. K., con la descripción de una variedad nueva. **Acta Botanica Mexicana** 49: 23–34, 1999.