



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA -
MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

ANA KELLY DOS SANTOS MAIA

Estudo in silico baseado em sequências de DNA plastidial de
espécies de Malvaceae: filogenia e DNA barcode

RECIFE-PE

2022

ANA KELLY DOS SANTOS MAIA

Estudo *in silico* baseado em sequências de DNA plastidial de espécies de Malvaceae: filogenia e DNA *barcode*

Tese apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia “Melhoramento Genético de Plantas”, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva.

Co orientador: Dr. Rômulo Maciel de Moraes Filho.

RECIFE-PE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M217e MAIA, ANA KELLY DOS SANTOS
Estudo in silico baseado em sequências de DNA plastidial de espécies de Malvaceae: filogenia e DNA barcode /
ANA KELLY DOS SANTOS MAIA. - 2022.
102 f. : il.
- Orientador: EDSON FERREIRA DA SILVA.
Coorientador: Romulo Maciel Moraes Filho.
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2022.
1. Bioinformática. 2. Genômica comparativa. 3. Filotaxonomia. 4. Identificação de espécies. 5. Gossypium. I.
SILVA, EDSON FERREIRA DA, orient. II. Filho, Romulo Maciel Moraes, coorient. III. Título

CDD

A meu irmão Everton dos Santos (*In
memoriam*).

Com todo meu amor e gratidão.

OFEREÇO

À minha família

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar em todo o meu caminho e ter me dado saúde e força para superar todos os obstáculos da vida.

Agradeço de forma especial ao meu padrasto Antônio, à minha mãe Irene, a minha tia Alvanira e a toda a minha família, por me incentivarem a levar meus estudos adiante e seguir firme.

Ao meu irmão Everton que mesmo de longe olha por mim e me guarda.

Aos meus sobrinhos queridos Elen e Miguel, que alegam meus dias e me motivam a continuar nessa jornada.

Aos meus familiares de coração, que a vida se encarregou de me presentear (Messias, Iascara, Merson, Maria do Carmo, Vitória, Neta e Michele). Obrigada por todos os momentos, por todo apoio e amparo que a mim foram prestados.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realizar este curso de pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida a longo dos quatro anos de doutorado.

Ao professor Dr. Edson Ferreira da Silva, por toda orientação e ajuda que me foram dadas ao longo dos meus sete anos de pós-graduação.

Ao Professor Dr. Cicero Carlos pelo acolhimento no Laboratório de Recursos genéticos da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Ao co orientador Dr. Rômulo Moraes pela paciência e pelos valiosos ensinamentos durante as análises e obtenção dos resultados da tese.

Aos membros da banca examinadora, por toda contribuição e sugestões para a melhoria desta pesquisa.

A Bióloga e querida amiga Dr^a. Iêda Ferreira, pelos ensinamentos, apoio e toda disponibilidade durante minha trajetória acadêmica na UFRPE.

A colega de turma Flávia por todo companheirismo nessa difícil jornada.

Agradeço aos meus queridos amigos (Tatiana, Claudia, Tania, Kayllane, Juliana, Amélia, Luiza, Patrick e muitos outros), por confiarem em mim e estarem do meu lado, principalmente nos momentos difíceis. Gratidão.

Em fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que esta pesquisa fosse realizada, os meus sinceros agradecimentos.

A todos vocês, o meu muito obrigado!

Estudo *in silico* baseado em sequências de DNA plastidial de espécies de Malvaceae: filogenia e DNA *barcode*

RESUMO

A família Malvaceae, pertencente à ordem Malvales, possui aproximadamente 4300 espécies distribuídas em cerca de 300 gêneros e nove subfamílias. Esta família é conhecida principalmente, por apresentar espécies de grande importância econômica, que inclui espécies alimentícias como o cacau (*Theobroma cacao*) e o quiabo (*Abelmoschus esculentus*), espécies ornamentais como o hibisco (*Hibiscus*), os baobás (*Adansonia*) e a paineira (*Ceiba*), espécies que são fontes de fibras naturais como o algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) e, espécies que fornecem madeira como a balsa (*Ochroma*). A família Malvaceae é cosmopolita e suas espécies são distribuídas em praticamente o mundo todo, com exceção de regiões muito frias. A classificação dessa família é problemática e foram evidenciadas relações mal resolvidas entre as subfamílias. O objetivo deste trabalho foi realizar análises de genômica comparativa, tempo de divergência e filogenia da família Malvaceae, utilizando marcadores plastidiais, assim como também, indicar sequências para uso como DNA *barcode* em espécies do gênero *Gossypium*. Para isso, foram utilizados genomas plastidiais de 102 espécies de Malvaceae e de espécies próximas (*outgroup*), provenientes de banco de dados. Através do gráfico VISTA foi possível evidenciar alta conservação e similaridade entre os plastomas de Malvaceae. As sequências dos genes selecionados (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*), foram utilizadas para obtenção da árvore filogenética através do método de máxima verossimilhança, com 1000 *bootstrap*, na qual resultou em uma árvore monofilética, bem suportada. Malvaceae foi dividida em dois principais clados (Malvadendrina e Byttneriina), com alto suporte. Em Malvadendrina, o clado Malvatheca (Malvoideae e Bombacoideae) apresentou baixo valor de suporte, mas essa relação é corroborada pela presença de características botânicas como pela presença de anteras monotecais e ausência de androginóforo. Este clado formou grupo irmão, bem suportado, do clado das subfamílias Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae e Sterculioideae. Mas relações entre Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae e Sterculioideae não foram resolvidas. O clado Byttneriina (Grewioideae e Byttnerioideae) foi fortemente suportado. De acordo com a análise do tempo de divergência foi evidenciado que as subfamílias de Malvaceae divergiram entre os períodos Paleoceno e Eoceno. Para a análise das regiões candidatas a DNA *barcode*, foram utilizados dez regiões gênicas (*accD*, *atpA*, *atpB*, *matK*, *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rbcL*, *rpoA* e *rpoC2*) e uma região intergênica (*trnH-psbA*). As análises dos 11 *loci* evidenciaram uma tendência de agrupamento das espécies de *Gossypium* por tipo de genoma e origem geográfica, mas não foi possível diferenciar em nível de subespécie e/ou variedade.

Palavras Chaves: bioinformática, genômica comparativa, filotaxonomia, identificação de espécies, *Gossypium*.

Estudo *in silico* baseado em sequências de DNA plastidial de espécies de Malvaceae: filogenia e DNA *barcode*

ABSTRACT

The family Malvaceae, belonging to the order Malvales, has approximately 4300 species distributed in about 300 genera and nine subfamilies. This family is known mainly for presenting species of great economic importance, which includes food species such as cocoa (*Theobroma cacao*) and okra (*Abelmoschus esculentus*), ornamental species such as hibiscus (*Hibiscus*), baobabs (*Adansonia*) and paineira (*Ceiba*), species that are sources of natural fibers such as cotton (*Gossypium hirsutum*) and species that provide wood such as balsa (*Ochroma*). The Malvaceae family is cosmopolitan and its species are distributed practically all over the world, with the exception of very cold regions. The classification of this family is problematic and unresolved relationships between the subfamilies were evidenced. The objective of this work was to perform comparative genomics, divergence time and phylogeny analyzes of the Malvaceae family, using plastid markers, as well as to indicate sequences for use as *barcode* DNA in species of the genus *Gossypium*. For this, plastid genomes of 102 species of Malvaceae and related species (*outgroup*) from a database were used. Through the VISTA chart, it was possible to show high conservation and similarity between the plastomes of Malvaceae. The sequences of the selected genes (*matK*, *rbcL*, *atpB* and *ndhF*) were used to obtain the phylogenetic tree using the maximum likelihood method, with 1000 *bootstrap*, which resulted in a well-supported monophyletic tree. Malvaceae was divided into two main clades (Malvadendrina and Byttneriina), with high support. In Malvadendrina, the Malvatheca clade (Malvoideae and Bombacoideae) showed a low support value, but this relationship is corroborated by the presence of botanical characteristics such as the presence of monotheical anthers and the absence of androgynophore. This clade formed a well-supported sister group to the subfamilies Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae and Sterculioideae. But relationships between Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae and Sterculioideae have not been resolved. The Byttneriina clade (Grewioideae and Byttnerioideae) was strongly supported. According to the analysis of the divergence time, it was evidenced that the subfamilies of Malvaceae diverged between the Paleocene and Eocene periods. For the analysis of candidate regions for *barcode* DNA, ten gene regions (*accD*, *atpA*, *atpB*, *matK*, *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rbcL*, *rpoA* and *rpoC2*) and an inter-gene region (*trnH-psbA*) were used. The analyzes of the 11 *loci* showed a tendency for the grouping of *Gossypium* species by type of genome and geographic origin, but it was not possible to differentiate at the level of subspecies and/or variety.

Key words: bioinformatics, comparative genomics, phylotaxonomy, species identification, *Gossypium*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Árvores e estrutura do caule de espécies de Malvaceae. A) *Bombax ceiba* B) *Bombax ceiba* C) *Cola acuminata* D) *Ceiba speciosa* E) *Pachira aquática*.....17

Figura 2 - Estrutura das folhas de espécies de Malvaceae. A) *Abelmoschus manihot* B) *Abelmoschus esculentus* C) *Cola acuminata* D) *Theobroma cacao* E) *Alcea rosea* F) *Althaea officinalis* G) *Bombax ceiba* H) *Malvastrum coromandelianum* I) *Talipariti tiliaceum* J) *Tilia mongolica* K) *Thespesia populnea* L) *Tilia oliveri* M) *Gossypium arboreum*.....18

Figura 3 - Estrutura floral de espécies de Malvaceae. A) *Gossypium arboreum* B) *Abutilon theophrasti* C) *Malvastrum coromandelianum* D) *Malva parviflora* E) *Talipariti tiliaceum* F) *Abelmoschus moschatus* G) *Corchorus olitorius* H) *Alcea rosea* I) *Althaea officinalis* J) *Bombax ceiba* K) *Ceiba speciosa* L) *Theobroma cacao*.....19

Figura 4 - Frutos e sementes de espécies de Malvaceae. A) *Abelmoschus esculentus* B) *Durio zibethinus* C) *Durio zibethinus* D) *Corchorus olitorius* E) *Theobroma cacao* F) *Theobroma grandiflorum*.....20

CAPÍTULO II

Filogenia da família Malvaceae e DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*.

Genômica comparativa e filogenia de Malvaceae.

Figura 1. Alinhamento de sequências completas de plastomas de 27 espécies da ordem Malvales. As espécies *Aquilaria rostrata* e *Phaleria macrocarpa* foram utilizadas como *outgroup*. Cores: as áreas em azul representam as regiões codificantes, áreas na cor rosa indicam regiões não codificantes. Os gráficos da imagem foram obtidos através de análises no VISTA e Chlorobox. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinonímias.....84

Figura 2. Filogenia da família Malvaceae baseada em quatro genes plastidiais (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*). As análises foram realizadas no MEGA7, através do método de máxima verossimilhança, usando suporte de *bootstrap* com 1000 replicatas. Os valores de suporte de *bootstrap* (%) são mostrados na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinonímias.....85

Figura 3. Árvore filogenética baseada em quatro marcadores plastidiais (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) e tempo de divergência entre espécies da família Malvaceae utilizando seis pontos de calibração. As análises foram realizadas nos softwares TimeTree e MEGA7, através do método de máxima verossimilhança, usando suporte de *bootstrap* com 1000 replicatas. O tempo de divergência entre as espécies é mostrado na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescentadas em seus nomes apresentam sinonímias.....86

Figura 4. Cladograma de espécies do gênero *Gossypium*, baseada em 11 regiões plastidiais (*matK*, *rbcL*, *accD*, *atpA*, *atpB*, *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rpoA*, *rpoC2* e *trnH-psbA*) para seleção de marcadores de DNA *barcode*. Os valores de suporte de *bootstrap* (%) são mostrados na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescentadas em seus nomes apresentam sinonímias.....87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Filogenia da família Malvaceae e DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*.

Genômica comparativa e filogenia de Malvaceae.

Tabela 1. Características das sequências do genoma plastidial de espécies de Malvaceae e *outgroup* utilizadas neste trabalho. Nome científico, número de referência da sequência no NCBI (Ref. Seq.), comprimento da sequência em pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), genes que codificam proteínas (CDS), RNA ribossômico (rRNA), RNA transportador (tRNA) e número de cromossomos das espécies.....88

Tabela 2. Valores dos sítios de parcimônia informativa (PI) e sítios variáveis (V) para espécies de Malvaceae e *outgroup*, Malvaceae sem *outgroup*, *Gossypium* e *outgroup* e *Gossypium* sem *outgroup*. Os valores foram obtidos a partir do alinhamento de sequências de regiões do cpDNA no software MEGA7.....89

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	14
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 CLASSIFICAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA MALVACEAE.....	16
2.2 DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA FAMÍLIA MALVACEAE.....	20
2.3 SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA.....	22
2.4 FILOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO DE MALVACEAE.....	23
2.5 BIOINFORMÁTICA.....	26
2.6 GENOMA PLASTIDIAL.....	27
2.7 DNA <i>BARCODE</i>	28
2.7.1 DNA <i>barcode</i> em espécies do gênero <i>Gossypium</i>	29
2.8 IMPLICAÇÕES DOS CONHECIMENTOS DE EVOLUÇÃO PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO.....	31
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4. HIPOTHESES.....	33
REFERÊNCIAS.....	34
CAPÍTULO II.....	46
Resumo.....	47
Introdução.....	48
Materiais e Métodos.....	49
Obtenção das sequências de genomas plastidiais.....	49

Obtenção dos dados das sequências.....	50
Alinhamento das sequências de genomas plastidiais.....	50
Análise filogenética	51
Análise do tempo de divergência entre os táxons.....	51
Análise de dados de DNA <i>barcode</i>.....	52
Resultados.....	52
Informações das sequências de genomas plastidiais.....	53
Comparação genômica de plastomas de espécies da família Malvaceae.....	53
Filogenia da família Malvaceae.....	54
Tempo de divergência entre as espécies de Malvaceae.....	56
Análise de marcadores de DNA <i>barcode</i> para <i>Gossypium</i>.....	56
Discussão.....	57
Genômica comparativa e filogenia de Malvaceae.....	57
Tempo de divergência entre as espécies de Malvaceae.....	70
Análise de marcadores de DNA <i>barcode</i> em <i>Gossypium</i>.....	74
Conclusão.....	76
Agradecimentos.....	77
Referências	77
Figuras.....	84
Tabelas.....	88
ANEXO I.....	90
INSTRUÇÕES GERAIS – REVISTA SCIENTIA AGRICOLA.....	91

CAPÍTULO I

(REVISÃO DE LITERATURA)

1. INTRODUÇÃO GERAL

O campo da genômica comparativa tem crescido bastante nos últimos anos, particularmente, devido aos depósitos de sequências de genomas inteiros de uma infinidade de espécies disponibilizados em bancos de dados. Assim, tornou-se possível realizar diversas análises *in silico* para estudos genômicos evolutivos e comparativos das espécies. Durante a evolução das espécies, os grupos de plantas adquiriram características que as distinguem e que justifica que sejam agrupadas para melhor entender e aprofundar o estudo das mesmas. Nesse sentido, as plantas foram agrupadas no reino Plantae, que foi classificado em divisão, classe e ordem. A ordem Malvales é representada por dez famílias e a família Malvaceae é uma das principais, por apresentar amplo uso econômico, principalmente como fonte de fibras naturais, além do uso como fonte de alimento, na fabricação de bebidas, produção de madeira, horticultura e medicina tradicional (HINSLEY, 2008).

A família Malvaceae possui aproximadamente 244 gêneros e 4.225 espécies (CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016). Dentre esses gêneros destaca-se o *Gossypium* por possuir uma das espécies de maior importância comercial, a *G. hirsutum*, o algodoeiro. Esse gênero possui 53 espécies, das quais 47 são diploides e seis tetraploides (SHIM *et al.*, 2018). Quanto a distribuição, as espécies desse gênero estão no mundo todo e apenas quatro delas são cultivadas, sendo duas diploides, *G. arboreum* e *G. herbaceum*, e duas tetraploides *G. hirsutum* e *G. barbadense* (LV *et al.*, 2013), das quais as duas últimas são as mais importantes, por apresentar fibras com alto valor comercial (FREIRE, 2000).

Malvaceae é considerada uma família cosmopolita, estando presente em diversas regiões, principalmente nas regiões tropicais (STEVENS, 2021). Essa família bastante diversa tem passado por algumas mudanças na sua organização, em busca de uma classificação mais adequada e que represente fielmente a sua história evolutiva. Após algumas modificações que ocorreram na ordem Malvales ao longo dos APG I, II e III (1998, 1999, 2003), a recente classificação do APG IV (2016), propõe que a ordem Malvales está inter-relacionada com as ordens Brassicales, Huerteales e Sapindales, sendo essas as ordens mais próximas filogeneticamente. Quanto às questões filogenéticas dentro da família Malvaceae, muitos trabalhos vêm sendo realizados para propor uma filogenia mais clara (CARVALHO-SOBRINHO *et al.*, 2016; CVETKOVIĆ *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2021). Alinhado ao estudo de filogenia de Malvaceae, algumas pesquisas tem incluído análises sobre o tempo de divergência entre as espécies (ARECES-BERAZAIN; ACKERMAN, 2016; CVETKOVIĆ *et al.*, 2021; HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ; MAGALLÓN, 2019; WANG *et al.*, 2021), para auxiliar os estudos de evolução.

Atualmente, pesquisadores têm utilizado diversas ferramentas para resolver problemas taxonômicos, de identificação de espécies e de filogenia da família Malvaceae e do gênero *Gossypium*, como por exemplo, técnicas com marcadores morfológicos, marcadores moleculares e citogenética (ABDULLAH *et al.*, 2019; ASHFAQ *et al.*, 2013; BRUBAKER; PATERSON; WENDEL, 1999; CHENG *et al.*, 2020; MARÍN; HILARIO; ANDINO, 2017). Contudo, ainda há a necessidade do uso de técnicas mais rápidas, de baixo custo e mais precisas. Nesse sentido, uma das ferramentas que tem se destacado, é a bioinformática.

A bioinformática tem se mostrado um meio muito útil para a análise e compreensão de dados biológicos e genômicos, pois, é uma ciência que utiliza conhecimentos e dados biológicos de bancos de dados através de ferramentas computacionais, para a organização e análise de grande quantidade de informações de dados biológicos (ANDRADE; SANDER, 1997). Bancos de dados como o *GenBank* abrange uma infinidade de sequências de nucleotídeos através da submissão de dados de sequências (DNA e proteínas) por diversos autores, nos quais são construídos pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (BENSON *et al.*, 2013). As sequências de DNA de genoma plastidial (cpDNA) têm sido bastante usadas para análises de filogenia, evolução e identificação de espécies (WU *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2020). O DNA plastidial tem sido muito utilizado, principalmente, por apresentar as seguintes características: está presente nos cloroplastos, possui herança materna e estrutura bem conservada (PALMER, 1985; PALMER; STEIN, 1986).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo esclarecer a filogenia da família Malvaceae e estimar o tempo de divergência dentro da família, através de ferramentas computacionais, utilizando como base marcadores plastidiais. O trabalho também objetivou indicar genes candidatos para DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*.

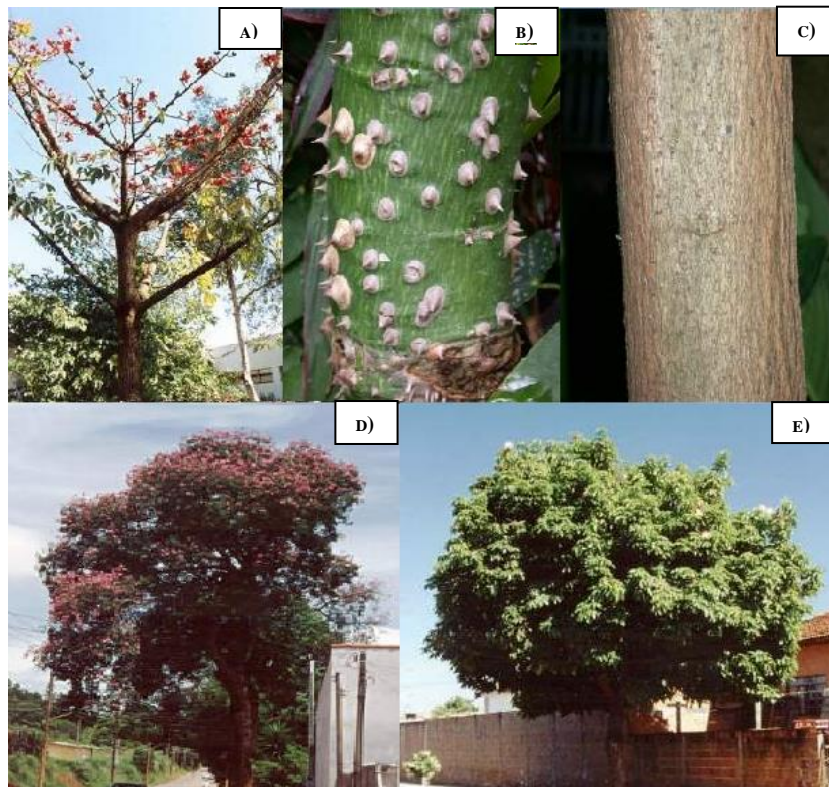
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CLASSIFICAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA MALVACEAE

Atualmente, o sistema de classificação APG IV, 2016, classifica a ordem Malvales como pertencente ao clado Malvidae, à classe Eudicotyledonaceae e a subclasse Rosidae. Essa ordem possui dez famílias, dentre as quais as principais grandes famílias botânicas são: Malvaceae, Dipterocarpaceae, Cistaceae e Thymelaeaceae (JUDD *et al.*, 2009). Dentre essas famílias, Malvaceae apresenta o maior número de espécies, que estão distribuídas em nove subfamílias: Grewioideae Hochreutiner, Byttnerioideae Burnett, Tilioideae Arnott,

Helicteroideae Meisner, Dombeyoideae Beilschmied, Brownlowioideae Burret, Sterculioideae Beilschmied, Malvoideae Burnett e Bombacoideae Burnett (APG IV, 2016; STEVENS, 2021; COLE, 2021). Essas subfamílias são representadas por inúmeras espécies distribuídas em cerca de 250 gêneros, tais como: *Abelmoschus*, *Abutilon*, *Alcea*, *Althaea*, *Anoda*, *Cristaria*, *Gaia*, *Gossypioides*, *Gossypium*, *Hampe*, *Helicteropsis*, *Herissantia*, *Hibiscus*, *Humbertiella*, *Kokia*, *Malva*, *Malvastrum*, *Malviscus*, *Napaea*, *Pavonia*, *Sida*, *Thespesia*, *Urena*, entre outros (WATSON; DALLWITZ, 1992).

Figura 1 - Árvores e estrutura do caule de espécies de Malvaceae. A) *Bombax ceiba* B) *Bombax ceiba* C) *Cola acuminata* D) *Ceiba speciosa* E) *Pachira aquática*.

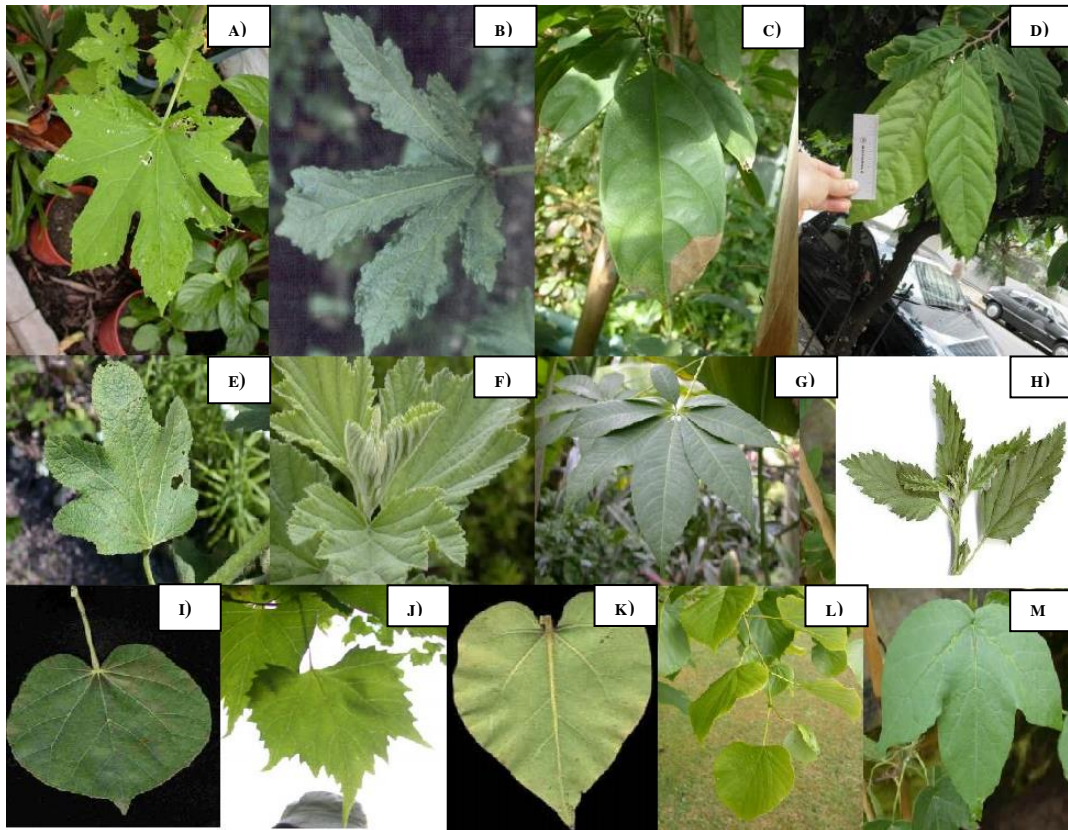


FONTE: <http://www.malvaceae.info/Genera/gallery.html>

As espécies da família Malvaceae podem ser anuais, bienais ou perenes, do tipo erva, arbusto ou árvore, caules com a presença de entrenós, cavidades secretoras (com mucilagem, quando presentes), floema interno ausente e tiloses geralmente presentes (WATSON; DALLWITZ, 1992) (Figura 1). Essas espécies apresentam características morfológicas muito variadas, tais como: tipos de folhas alternas, simples ou compostas, de margem inteira ou serrada, contendo nervuras secundárias que geralmente atingem os dentes das folhas, e possuem estípulas, já a inflorescência é do tipo unida (cimosa ou racemosa), ou ainda

reduzida a uma única flor, e essas flores se apresentam muito vistosas (SOUZA; LORENZI, 2012) (Figura 2).

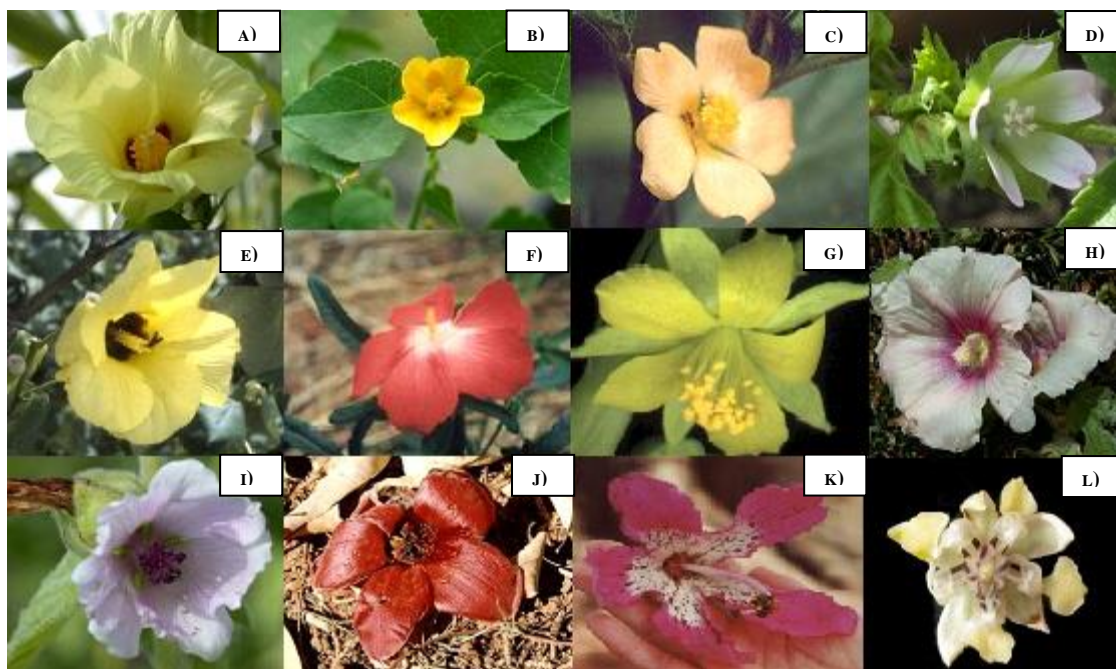
Figura 2 - Estrutura das folhas de espécies de Malvaceae. A) *Abelmoschus manihot* B) *Abelmoschus esculentus* C) *Cola acuminata* D) *Theobroma cacao* E) *Alcea rosea* F) *Althaea officinalis* G) *Bombax ceiba* H) *Malvastrum coromandelianum* I) *Talipariti tiliaceum* J) *Tilia mongolica* K) *Thespesia populnea* L) *Tilia oliveri* M) *Gossypium arboreum*.



FONTE: <http://www.malvaceae.info/Genera/gallery.html>.

As flores são do tipo bissexuais ou unissexuais, com a presença ou não de brácteas formando cinco sépalas e cinco pétalas livres, que também podem ser ausentes (JUDD *et al.*, 2009) (Figura 3). Essas flores são visitadas por diversos polinizadores, como beija-flores e morcegos, e, outros insetos frequentadores das flores das espécies de Malvaceae, como abelhas, formigas, moscas e percevejos (JOHRI; RAGHUVANSHI, 2014). A estrutura floral das espécies de malvaceae representa sinapomorfias do grupo. Além de ser considerada como monofilética, a família malvaceae apresenta sinapomorfias como a presença de sépalas contendo nectários florais incomuns com pelos glandulares multicelulares bastante compactados (JUDD; MANCHESTER, 1997).

Figura 3 - Estrutura floral de espécies de Malvaceae. A) *Gossypium arboreum* B) *Abutilon theophrasti* C) *Malvastrum coromandelianum* D) *Malva parviflora* E) *Talipariti tiliaceum* F) *Abelmoschus moschatus* G) *Corchorus olitorius* H) *Alcea rosea* I) *Althaea officinalis* J) *Bombax ceiba* K) *Ceiba speciosa* L) *Theobroma cacao*.



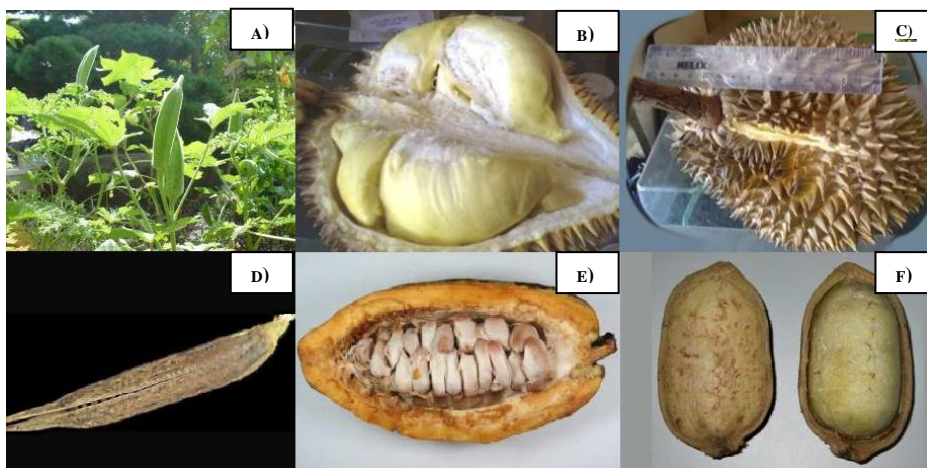
FONTE: <http://www.malvaceae.info/Genera/gallery.html>.

Os frutos das espécies da família Malvaceae podem ser do tipo cápsula, drupa ou baga, e as plantas são caracterizadas por possuírem pelos diversos, estrelados ou com escamas (JUDD *et al.*, 2009) (Figura 4). Esses frutos podem ser do tipo deiscentes ou indeiscentes, sem divisão em mericarpos ou ainda separados em mericarpos lignificado, carnoso ou membranoso (BAYER; KUBITZKI, 2003) (Figura 4). A época de florescimento e frutificação é bem variada entre as espécies da família Malvaceae, por exemplo, a espécie *Alcea rosea* floresce de fevereiro a abril e frutifica na mesma época, já algumas espécies do gênero *Corchorus* florescem e frutificam entre setembro e novembro, outras espécies desse gênero florescem e frutificam em março, as espécies da subfamília Tilioideae florescem e frutificam entre março e julho (JOHRI; RAGHUVANSHI, 2014; GUAL-DIAZ; DIEGO-PÉREZ, 2018).

As sementes das espécies de Malvaceae podem ser do tipo pubescentes, aladas, estrofioladas, ariladas e com a presença de endosperma abundante que pode estar reduzido ou ausente, já os cotilédones são finos ou carnudos, retos, planos ou em dobras, com enrugação ou contorção, e, sua germinação pode se apresentar de forma hipógea ou epígea. (BAYER; KUBITZKI, 2003) (Figura 4). Toda via, é interessante citar também algumas outras características marcantes da família Malvaceae e que podem ser utilizadas para identificação ou distinção entre as espécies dessa família, como: cor das pétalas (branca, amarelas, salmão

ou violetas), presença de tricomas nos ramos (estrelados, longos, rígidos e/ou densos), presença de tricomas nos frutos (tricomas simples), epicalyx das flores (presente ou ausente), frutos (ovadas, globosos, piriformes ou elipsoidais), frutas com ou sem espinhos (PORDEUS; SOBREIRA; MELO, 2018; GUAL-DIAZ; DIEGO-PÉREZ, 2018). Um exemplo disso é a presença de espinhos que é restrita apenas as espécies dos gêneros *Ceiba*, *Abroma* e *Byttneria* (BAYER; KUBITZKI, 2003).

Figura 4 - Frutos e sementes de espécies de Malvaceae. A) *Abelmoschus esculentus* B) *Durio zibethinus* C) *Durio zibethinus* D) *Corchorus olitorius* E) *Theobroma cacao* F) *Theobroma grandiflorum*.



FONTE: <http://www.malvaceae.info/Genera/gallery.html>.

2.2 DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA FAMÍLIA MALVACEAE

A família Malvaceae está entre os 15 maiores grupos de plantas vasculares que ocorrem no Brasil (BOVINI *et al.*, 2013). Esta família possui 4.225 espécies e 243 gêneros, sendo que no Brasil, essa família é representada por cerca de 70 gêneros e 757 espécies, das quais 406 são endêmicas, aproximadamente 290 espécies estão distribuídas na Região Nordeste, e destas, 161 espécies são representadas na Caatinga (BFG, 2015; LIMA; BOVINI; CONCEIÇÃO, 2019). Dentre os gêneros considerados como espontâneos ou endêmicos, são citados os gêneros *Malvastrum*, *Melochia*, *Sida*, *Triumfeta*, *Wissadula*, *Monteiroa*, *Calyptraemalva* e *Calyculogyas* (BOVINI *et al.*, 2013). Esta família pertence ao grupo das angiospermas, é cosmopolita e está presente em praticamente todos os continentes, com exceção da Antártica, sendo as espécies encontradas em habitats úmidos, semiáridos e áridos (HINSLEY, 2010). A maioria dessas espécies ocorre no México, na Europa, Ásia, Austrália, Ilhas Oceânicas do Pacífico, Madagascar, Índia, Havaí, Caribe, África e Américas (Central e do Sul) (HINSLEY, 2010).

De acordo com dados do International Plant Names Index (IPNI) e Plants of the

World Online (POWO), a subfamília Grewioideae é pan-tropical, possui 25 gêneros e aproximadamente 770 espécies; a subfamília Byttnerioideae também é pan-tropical (principalmente da América do Sul) e apresenta 26 gêneros com um total de 650 espécies; a subfamília Sterculioideae é pan-tropical e apresenta 12 gêneros com 430 espécies; a subfamília Tilioideae ocorre em regiões temperadas do norte da América Central e possui três gêneros com 50 espécies; a subfamília Dombeyoideae é paleotropical (Madagascar) e possui cerca de 20 gêneros com aproximadamente 380 espécies; a subfamília Brownlowioideae é paleotropical e apresenta oito gêneros com cerca de 70 espécies; a subfamília Helicteroideae é tropical do Sul da Ásia e possui 12 gêneros com cerca de 90 espécies; a subfamília Bombacoideae é de regiões tropicais da África e da América e possui 12 gêneros com cerca de 120 espécies; por último, a subfamília Malvoideae também é de regiões tropicais a temperadas, apresentando 78 gêneros com 1670 espécies.

Esta família apresenta diversas espécies de importância econômica, tais como as paineiras e os algodoeiros, que são as principais representantes dentre as várias espécies de árvores, arbustos e ervas desta família (JUDD *et al.*, 2009). Os gêneros de maior valor comercial e importância econômica desta família são *Gossypium*, *Sterculia*, *Hibiscus*, *Bombax*, *Corchorus*, *Tilia* e *Malvastrum* (JUDD *et al.*, 2009). O gênero *Gossypium* inclui o algodoeiro, que é considerada uma das principais culturas agrícolas do mundo (WEIGMANN, 2021). Enquanto o gênero *Sterculia* (aproximadamente 150 espécies) é pantropical, o gênero *Hibiscus* (aprox. 550 espécies) apresenta ampla distribuição, o gênero *Bombax* (aprox. 20 espécies) possui espécies produtoras de fibras, o gênero *Corchorus* possui cerca de 100 espécies, e, o gênero *Tilia* (aprox. 23 espécies) está presente no norte de regiões temperadas dos Estados Unidos e Inglaterra, apresenta espécies de árvores que contém flores exuberantes além da valiosa madeira (BERRY, 2015).

Outros gêneros, como *Pavonia* (aprox. 200 espécies) e *Sida* (aprox. 200 espécies) possuem ampla distribuição em todo o mundo; o gênero *Ceiba* (aprox. 11 espécies) produz a fibra da chamada sumaúma; *Ochroma* é o gênero que apresenta espécies utilizadas como fonte de madeira; o gênero *Adansonia* (os baobás do Velho Mundo), possui espécies bastante cultivadas devido à aparência das suas flores e árvores; o gênero *Grewia* (aprox. 290 espécies) é Neotropical, sendo suas espécies usadas como fonte de fibra; o gênero *Byttneria* (aprox. 135 espécies) é pantropical; *Ayenia* (aprox. 70 espécies) é de regiões tropicais e temperadas; *Theobroma* (aprox. 20 espécies) é nativo dos Neotrópicos, apresenta duas importantes espécies alimentícias, *T. cacao* (cacau) e *T. grandiflorum* (a polpa

dos frutos é utilizada para sucos ou sorvetes); o gênero *Cola* (aprox. 125 espécies) é africano, contém cafeína em suas sementes que são utilizadas em bebidas à base de cola; o gênero *Dombeya* (aprox. 225 espécies) possui espécies que são cultivadas por suas flores, sendo um gênero bastante diverso (Madagascar); *Helicteres* (aprox. 40 espécies) e *Durio* (aprox. 27 espécies) crescem na Ásia, sendo a espécie *D. zibethinus* famosa por seus frutos de durian (BERRY, 2015).

2.3 SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA

Até ocorrer a estruturação do que hoje conhecemos por sistemática, as espécies eram classificadas em grupos, de acordo com suas semelhanças, ou seja, a presença ou ausência de características morfológicas. Em meados do século XX, surgiu a sistemática, que busca identificar a diversidade biológica de acordo com um sistema de classificação, compreendendo como ocorreu a evolução que gerou essa diversidade, além de estimar o grau de parentesco e inferir sobre a evolução das características (BASIBUYUK *et al.*, 2015). Assim, dentro da sistemática, surgiram duas teorias, a evolutiva (fenética) e a filogenética (cladística), baseadas no princípio de que organismos mais próximos geneticamente ou com relação de parentesco, também eram mais semelhantes do que organismos que não tinham relação de parentesco, devido à herança das características herdadas do seu ancestral comum (LOPES; CHOW, 2014).

Na escola evolutiva ou fenética, eram consideradas as semelhanças e o grau de parentesco entre os indivíduos, o que implicava em uma escolha arbitrária de caracteres e da impossibilidade da utilização de diversos caracteres simultaneamente (LOPES; CHOW, 2014). Já a sistemática filogenética, também chamada de cladística, foi proposta pelo entomólogo Willi Hennig, em 1950, revolucionando a área da taxonomia e sistemática, devido a sua grande importância para a reconstrução da história evolutiva das espécies, se tornando uma ferramenta bastante útil em diversas áreas de estudos, principalmente na área das ciências biológicas (SANTOS; KLASSA, 2012). Nos anos seguintes, foram publicados artigos difundindo teorias, conceitos e ideias sobre evolução. Nesse sentido, uma das teorias foi proposta por Darwin, no qual apontou que a seleção natural gerava numerosas variações ao longo do ciclo de vida das espécies e dos seus descendentes, devido às várias mudanças ocasionadas ao longo do tempo, gerando (AFONSO, 2009).

A sistemática filogenética se baseia em dois principais princípios: a) as apomorfias (caracteres derivados compartilhados) nas quais são caracteres sólidos para evidenciar um

agrupamento de organismos; b) a reconstrução da história evolutiva das espécies por meio da sistemática filogenética deve ser realizada com base no monofiletismo dos grupos (BASIBUYUK *et al.*, 2015). Nos últimos anos, vários estudos têm sido direcionados em busca de compreender como ocorreu a evolução das espécies. A Filogenia é o estudo da história evolutiva de uma espécie ou um grupo de espécies, relacionada à sua descendência, de acordo com o ancestral comum (GITTLEMAN, 2016). O estudo da filogenia pode ser realizado através de diferentes métodos, dentre eles: parcimônia e máxima verossimilhança (BASIBUYUK *et al.*, 2015).

Para compreender a origem e evolução das plantas e seus parentes, é essencial um estudo de filogenia, visando o entendimento das novas variações adaptativas das espécies, levando em consideração também, os efeitos causados pelos fatores climáticos e/ou ecológicos, e, a diversidade das espécies (HAO *et al.*, 2019). Para isso, são utilizadas informações da área da paleontologia, anatomia, embriologia e de estudos moleculares (GITTLEMAN, 2016). Nesse sentido, as sequências de DNA do genoma das plantas podem ser utilizadas, pois, essas sequências contêm informações muito importantes sobre a origem e evolução das espécies, diversidade, fisiologia, hereditariedade e outras (HAO *et al.*, 2019).

2.4 FILOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO DE MALVACEAE

A taxonomia é uma ciência que busca organizar e classificar os organismos, com base em sua filogenia (GITTLEMAN, 2016). Se tratando da ordem Malvales, em classificação inicial, eram consideradas quatro principais famílias tradicionais, sendo elas: Malvaceae, Sterculiaceae, tiliaceae e Bombacaceae (ALVERSON *et al.*, 1999). A família Malvaceae é monofilética e Sterculiaceae, tiliaceae e Bombacaceae são não monofiléticas ou parafiléticas, porém, a separação dessas famílias dentro da ordem Malvales era inconsistente (JUDD; MANCHESTER, 1997; JUDD *et al.*, 2009). Tal inconsistência motivou a realização de vários estudos com base em dados morfológicos, moleculares e anatômicos, visando compreender as relações filogenéticas da ordem Malvales e a estreita relação entre suas famílias (ALVERSON *et al.*, 1999; BAYER *et al.*, 1999; JUDD; MANCHESTER, 1997).

Portanto, a proposta inicial para classificação das espécies da família Malvaceae passou por várias modificações, apresentando várias descrições para sua sistemática, e ainda existem muitas dúvidas a respeito das delimitações entre as espécies. Em 1999, Bayer e colaboradores propuseram um rearranjo da ordem Malvales, com base em dados moleculares, morfológicos e biogeográficos, tendo resultado em modificações na família Malvaceae. Esses

autores sugeriram a fusão das famílias Sterculiaceae, Tiliaceae e Bombacaceae, e a inclusão dessas espécies em uma única família, Malvaceae. Após nova delimitação de famílias, Malvaceae foi dividida em nove subfamílias: Byttnerioideae, Grewioideae, Tilioideae, Helicteroideae, Sterculioideae, Brownlowioideae, Dombeyoideae, Bombacoideae e Malvoideae (BAYER *et al.*, 1999).

Atualmente, o sistema de classificação APG estabeleceu a relação do grupo das angiospermas com base em dados filogenéticos. A ordem Malvales é monofilética (JUDD; MANCHESTER, 1997), e, segundo o APG IV, 2016, essa ordem está inter-relacionada com as ordens Brassicales, Huerteales e Sapindales, sendo parte do grupo das Malvids e Rosids. A ordem Malvales possui dez famílias: Cytinaceae, Muntingiaceae, Neuradaceae, Malvaceae, Sphaerosepalaceae, Thymelaeaceae, Bixaceae, Cistaceae, Sarcolaenaceae e Dipterocarpaceae (APG IV, 2016; COLE, HILGER, STEVENS, 2019). As principais grandes famílias botânicas da ordem Malvales são Malvaceae, Dipterocarpaceae, Cistaceae e Thymelaeaceae (JUDD *et al.*, 2009). Estudos recentes evidenciaram que Dipterocarpaceae e Bixaceae são as principais famílias mais próximas de Malvaceae (STEVENS, 2021).

Na medida em que as relações dentro do grupo das angiospermas se tornam mais claras, levando em consideração as modificações que ocorreram na ordem Malvales abordadas no APG I, II e III (1998, 1999, 2003), a delimitação familiar, principalmente em relação à família Malvaceae, ainda é uma questão considerada problemática por muitos pesquisadores e taxonomistas, e, portanto, ainda não resolvida, direcionando o foco atual das pesquisas para a resolução de questões dentro de família (APG IV, 2016).

Em estudos de filogenia da família Malvaceae, Bayer *et al.*, 1999 analisaram as sequências dos genes *atpB* e *rbcL*, relatando o alto suporte para o monofilatismo da família. Abdullah *et al.*, 2019 analisaram a filogenia de Malvaceae, constatando relacionamento filogenético bem resolvido para 22 espécies de seis subfamílias de Malvaceae, com base no genoma completo. Os autores também observaram a necessidade de maior amostragem para esclarecimento da relação taxonômica de Malvaceae. Wang *et al.*, 2021 analisaram a filogenia de oito subfamílias de Malvaceae, obtendo como resultado a divisão dessa família em dois grandes clados principais (Byttneriina e Malvadendrina), com alto valor de suporte. Os mesmos autores encontraram resultados de relações mal suportadas para espécies de *Hibiscus*, com baixo valor de suporte e também ressaltaram a necessidade da inclusão de espécies da subfamília Brownlowioideae nas próximas análises, para um relacionamento taxonômico

mais esclarecido.

Pesquisas vêm sendo realizadas para elucidar a origem e evolução das espécies, seu processo de domesticação e de cultivo. A evolução das plantas ocorre principalmente por meio de mudanças e/ou inovações morfológicas, permitindo que as espécies adquiram maior capacidade de adaptação às diversas condições e ambientes, ampliando sua diversidade (MORA; GONZÁLEZ, 2016). Além de morfológica, as mudanças também podem ser de origem bioquímica, reprodutiva, fisiológica e até do tipo comportamental. (BASIBUYUK; QUICKE, 1995, 1999; BASIBUYUK *et al.*, 2015).

O estudo da história evolutiva das plantas por meio de sequências gênicas é bastante complexo, pois requer a coleta de materiais e sua correta identificação, além do uso de várias técnicas de análises (MAGALHÃES JÚNIOR; OLIVEIRA, 2008). Os autores Barros, Pinheiro e Lourenço, 2008, reforçam que o significado de evolução está ligado a mudança, transformação. Nesse sentido, as pesquisas têm sido direcionadas para estudar a evolução das famílias dos genes, a mudança do conteúdo genético dos genes, as funções e expressão dos genes, e, a comparação entre famílias de genes (MORA; GONZÁLEZ, 2016).

Para Stevens, 2021, analisar a divergência e distribuição, datando a idade da separação das espécies é muito importante para o estudo de evolução dos grupos de plantas. Heckenhauer *et al.*, 2017 enfatizam que em paralelo as análises das relações filogenéticas, a idade dos clados aliada a uma correlação geográfica é de bastante interesse para o entendimento da história evolutiva das espécies. O uso de registros fósseis, por exemplo, é bastante útil para os estudos de filogenia e de datação de tempo de divergência entre espécies ou grupos (GITTLEMAN, 2016).

Conforme os registros da literatura, as ordens pertencentes ao grupo das angiospermas apresentam taxas de diversificação bastante variáveis, sendo a ordem Malvales (Clado Malvids) a que apresenta a maior taxa de diversificação, 0,1877-0,2366 milhões de anos, excedendo todas as taxas estimadas para as outras ordens deste grupo (MAGALLÓN; CASTILLO, 2009). A origem do clado malvaleano se deu entre o período Cretáceo e Paleoceno (100-62 Ma), incluindo a família Malvaceae, que teve origem no período Cretáceo (83-66 Ma), entre 82 e 72 Ma, e, diversificação logo após sua origem (8 Ma) (HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ; MAGALLÓN, 2019).

Para compreender os processos evolutivos, também é importante conhecer e entender

a diversidade e evolução dos cariótipos (MORAES *et al.*, 2020). O uso de dados de cariótipo na taxonomia como os dados das variações encontradas no número de cromossomos das espécies, podem confirmar as relações genéticas entre as espécies e como elas divergiram entre si, através dos resultados obtidos para os vários táxons distribuídos nos distintos clados (GUERRA, 2008). Os números de cromossomos variam amplamente nas plantas, podendo ser conservado ou variado entre as espécies que se relacionam taxonomicamente, como acontece com as espécies da família Malvaceae, em que são relatados números de cromossomos variando de $n = 7$ em espécies do gênero *Abutilon* até números elevados como de $2n = 276$ em espécies do gênero *Eriotheca* (COSTA *et al.*, 2017; GREWAL; KAUR, 2020). Ainda segundo os mesmos autores, essa variação no número de cromossomos dentro do mesmo grupo de espécies, acontece principalmente devido a ocorrência de diferentes níveis de ploidia nos mais variados táxons.

Em trabalho de revisão sobre a família Malvaceae, Bayer e Kubitzki, 2003, relataram que o possível número cromossômico básico para espécies de Malvaceae é de $n = 10$, o qual foi descrito para espécies das subfamílias Byttnerioideae e Dombeyoideae. Os mesmos autores relatam alguns números cromossômicos para espécies de outras subfamílias dentro de Malvaceae, como $n = 20$ para espécies da subfamília Sterculioideae e Brownlowioideae, $n = 9$ ou 8 para espécies da subfamília Grewioideae (com exceção de *Corchorus*, $n = 7$), $n = 41$ ou 82 para espécies da subfamília Tilioideae, sendo a subfamília Malvoideae bastante variada em relação ao número cromossômico. Para as espécies do gênero *Gossypium*, por exemplo, o número cromossômico varia de $2n = 26$ em algumas espécies e $2n = 52$ em outras (FERREZ-PEREIRA *et al.*, 2007). Este e outros exemplos citados demonstram que a variabilidade cromossômica entre as espécies podem estar relacionadas com semelhanças genéticas, as quais podem ser muito úteis para a reconstrução da filogenia do grupo Malvaceae.

2.5 BIOINFORMÁTICA

A Bioinformática é uma ciência relativamente nova, na qual inclui várias áreas de conhecimento como: a engenharia de softwares, a matemática, a estatística, a ciências da computação e a biologia molecular, para o desenvolvimento de plataformas computacionais eficientes visando à análise de dados (PROSDOCIMI *et al.*, 2012). A utilização de ferramentas de bioinformática tem se tornado essencial para resolver vários problemas biológicos em genômica e/ou proteômica, na área de evolução do genoma, sistemas biológicos, biotecnologia, entre outros (JIMENEZ-LOPEZ *et al.*, 2013).

Por meio da bioinformática, é possível desenvolver programas para análise de sequências de DNA, que são úteis para inferir sobre as relações de parentesco entre as espécies, representadas na forma de árvores filogenéticas, para facilitar o entendimento sobre os processos biológicos e de evolução das espécies (PROSDOCIMI *et al.*, 2012). A árvore filogenética auxilia no entendimento da história evolutiva das espécies, através de um conjunto de sequências que são representadas em ramos e em nós internos são representadas as sequências ancestrais (RAUSCH, 2010). Outra ferramenta da bioinformática bastante utilizada é o alinhamento de estruturas de proteínas que se destaca por sua importância para determinar a diferença entre os aminoácidos e entre suas estruturas (DINIZ; CANDURI, 2017).

A medida que ocorre o avanço das tecnologias da bioinformática, também se torna crescente o seu uso, de maneira que tem proporcionado a geração de uma grande quantidade de dados biológicos, que estão organizados e armazenados em bancos de dados, disponíveis para uso e pesquisa (RANI; GUPTA, 2017). Segundo Diniz e Canduri (2017), existem 1.739 bancos de dados biológicos que contêm fontes de informações, sejam elas de sequências de DNA brutas, sequências de proteínas, entre outros, que podem ser utilizadas com o auxílio da bioinformática para análise de dados biológicos. Dentre os principais bancos de dados de sequências de nucleotídeos e de proteínas disponíveis, o *GenBank* no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), se destaca por ser um dos bancos de dados públicos mais conhecido e também mais acessado em todo o mundo (PEVSNER, 2015).

2.6 GENOMA PLASTIDIAL

As plantas superiores possuem organelas celulares denominadas de plastídios, as quais possuem genomas circulares de fita dupla com tamanho entre 120 e 160 quilobases, sendo que cada genoma codifica cerca de 120 genes em células que contêm aproximadamente 10.000 cópias idênticas (MALIGA, 2002). As cópias idênticas destes genomas são encontradas nos vários tipos de plastídios, dentre eles, os proplastídeos (tecidos meristemáticos), os cloroplastos (pigmento verde fotossintetizante - clorofila), os cromoplastos (coloração das flores e frutas) e outros tipos de plastídios úteis para o armazenamento de amido e produção de proteínas ou lipídios (BOCK, 2007). A maioria desses plastídios é organizado em uma longa seção de cópia única (LSC) e outra seção curta também de cópia única (SSC), flanqueada por duas repetições invertidas (IRs), altamente conservadas (KOLODNER; TEWARI, 1979).

O cloroplasto é um plastídio que apresenta genoma bem conservado e de evolução bastante lenta (PALMER, 1985). Segundo Krebs, Goldstein, Kilpatrick (2018), o genoma de cloroplasto (cpDNA) possui tamanho relativamente grande, cerca de 140 kb, podendo variar de 120 a 217 kb. Esse genoma contém mais de 62 genes que codificam polipeptídios, incluindo proteínas ribossomais, RNA polimerase, componentes da fotossíntese, entre outros (SHIMADA; SUGIURO, 1991). De acordo com Jansen *et al.*, (2005), o número de genes no cpDNA varia de 120 a 130, apresentando uma média de 120 genes. Em plantas, os genes do cpDNA codificam entre 50 e 100 proteínas, sendo 21 associadas ao ribossomo, 30 a 32 RNA transportador (tRNAs), e quatro RNA ribossomal (rRNAs) (KREBS; GOLDSTEIN; KILPATRICK, 2018). Esses genes estão envolvidos em vários processos, como na fotossíntese, transcrição, tradução e na biossíntese de vários compostos (WAKASUGI; TSUDZUKI; SUGIURA, 2001).

Os cloroplastos possuem clorofila e são responsáveis pela realização da fotossíntese através de enzimas como a ribulose bifosfato carboxilase (Rubisco-*rbcL*), que é frequentemente usada em estudos de filogenias de plantas (KREBS; GOLDSTEIN; KILPATRICK, 2018). O sequenciamento completo desse genoma fornece dados de sequências de genomas como fonte de genes padronizados que são úteis para a obtenção de filogenias precisas e discriminação de espécies (RUHSAM *et al.*, 2015). Soltis e Soltis (2020) ressaltam que as plantas possuem em seu genoma as características que contém informações sobre sua história evolutiva, e proporcionam o entendimento sobre suas relações a nível filogenético, tornando possível sua classificação dentro da árvore da vida. Devido essa e outras várias propriedades biológicas já citadas, assim como também sua herança uniparental (geralmente materna), o genoma de plastídio é considerado ideal para estudos ecológicos e evolutivos (TWYFORD; NESS, 2017).

2.7 DNA BARCODE

A identificação da maioria das espécies, por muito tempo, foi realizada através da análise e comparação de caracteres morfológicos (HEINRICH, 2007). Entretanto, em muitos casos, pode haver falhas inerentes ao uso de uma única metodologia e também inerentes a erros de interpretação adotados nos métodos clássicos (PANG *et al.*, 2012). Tendo em vista a problemática das falhas que podem ocasionar uma classificação errônea e a necessidade de métodos mais rápidos, precisos e de baixo custo, as pesquisas têm se voltado para a busca por outros métodos de identificação de espécies. Uma importante alternativa para elucidar as

falhas na identificação de espécies é a adoção de métodos moleculares. Dentre essas metodologias, destaca-se a utilização de sequências de DNA denominada como DNA *barcode* (HEBERT *et al.*, 2003). Essa técnica envolve a seleção de um ou mais *loci* do DNA, de regiões que sejam padronizadas e que possam ser sequenciadas de forma confiável em amostras bastante diversificadas, podendo ser facilmente comparadas, a fim de promover a distinção entre as espécies (HOLLINGSWORTH; GRAHAM; LITTLE, 2011).

Em plantas, o uso de DNA *barcode* mostrou ser uma tarefa bastante difícil, mas estudos *in silico* têm sido realizados para a escolha de marcadores plastidiais codificantes e não codificantes, resultando na sugestão de várias combinações de marcadores de plastídio (HOLLINGSWORTH; GRAHAM; LITTLE, 2011). Após várias sugestões e discussões sobre quais são os marcadores mais adequados, que obedecem aos critérios de universalidade, qualidade de sequência e poder de discriminação, o Plant Working Group-CBOL (2009) recomendou os marcadores *matK* e *rbcL* como sendo as principais regiões para o estudo de plantas terrestres por meio de DNA *barcode*, podendo incluir marcadores adicionais se necessário. Scarcelli *et al.*, (2011) sugerem os marcadores de cpDNA: *rbcL*, *atpB*, *trnL-F*, *matK*, *psbA*, *trnH*, *RPOC1*, *RPOB-trnC*, *psbK-psbI*, *atpF-atpH*, *atpH-atpI*, como sendo os mais comumente usados para inferência filogenética.

O uso de marcadores de DNA *barcode* tem se mostrado eficiente em alguns trabalhos recentes. Dentre os quais, Lee *et al.*, (2016) analisaram oito *loci* candidatos a DNA *barcode* de espécies de *Aquilaria* e conseguiram identificar que a combinação das regiões *trnL-trnF* + ITS2 foi útil para discriminar espécies dentro do gênero *Aquilaria*, ressaltando a importância da identificação correta das espécies desse gênero para fins medicinais. Já Elansary *et al.*, (2017) avaliaram a combinação dos marcadores *matK* e *rbcL* em seu trabalho, para discriminar espécies de 62 famílias hortícolas, constatando que os marcadores são altamente eficientes no sucesso de identificação a nível de família e gênero, sendo moderadamente eficiente a nível de espécies. Os autores ressaltaram a importância do uso de DNA *barcode* para o setor hortícola e agrícola, e, ainda recomendaram o uso de uma região de DNA *barcode* complementar para aumentar a eficiência na identificação dos táxons.

2.7.1 DNA *barcode* em espécies do gênero *Gossypium*

O gênero *Gossypium* é dividido em nove tipos de genomas, sendo oito genomas representados pelas espécies diploides (genomas A, B, C, D, E, F, G, e K) e um genoma de espécies tetraploides (genoma AD) (PERCIVAL; STEWART; WENDEL, 1999). Esse

gênero apresenta 53 espécies, com ampla distribuição no mundo, sendo 47 espécies diploides e seis tetraploides (SHIM *et al.*, 2018). As espécies tetraploides de *Gossypium* são representadas por duas espécies domesticadas, *G. hirsutum* e *G. barbadense*, e, as espécies selvagens, *G. tomentosum*, *G. darwinii* e *G. mustelinum* (ADAMS; WENDEL, 2004). Segundo Valicek (1978), as espécies do grupo das tetraploides tiveram origem através do processo de hibridação ocorrido entre espécies do velho mundo, uma espécie diploide cultivada de genoma A e uma espécie silvestre do genoma D. Esse processo de hibridação ocorreu no México, há 1,5 milhões de anos, resultando na origem do nono genoma do gênero *Gossypium*, o genoma AD (WENDEL; CRONN, 2003; LIU *et al.*, 2001).

O gênero *Gossypium* é conhecido por representar uma das culturas mais importantes economicamente, o algodoeiro. Dentre as espécies de *Gossypium* descritas, apenas quatro delas são cultivadas para a produção de fibras de algodão, sendo duas tetraploides, *G. hirsutum* e *G. barbadense*, e, duas diploides, *G. arboreum* e *G. herbaceum* (LV *et al.*, 2013). Nesse contexto, para a realização de trabalhos de pesquisa biológicas como de melhoramento genético das espécies, por exemplo, é essencial o conhecimento a cerca das espécies, principalmente se tratando da sua correta identificação. Um dos métodos utilizados pelos taxonomistas para a identificação da maioria das espécies é através de caracteres morfológicos. Porém, a identificação dessas espécies não é uma tarefa simples e necessita de grandes esforços dos taxonomistas, em meio a diversas limitações, que podem acarretar em identificações incorretas (HEBERT *et al.*, 2003). Portanto, uma alternativa a este método que vem sendo empregada é a técnica de DNA *barcode*, que compreende na utilização de sequências de DNA como códigos de barras para a identificação correta das espécies (HEBERT *et al.*, 2003).

Para espécies de *Gossypium*, são escassos os trabalhos de pesquisa utilizando a técnica de DNA *barcode*. Assim, foram testados poucos marcadores para uso como DNA *barcode* de espécies de *Gossypium*, além do uso limitado de regiões, os trabalhos incluíram um baixo número de amostras de espécies. Roy *et al.*, 2010, analisando DNA *barcode* para espécies de *Berberis*, realizou um teste preliminar dos marcadores *ITS*, *MatK*, *rbcL* e *trnH-psbA* para espécies de *Gossypium* e *Ficus*. Para as quatro espécies de *Gossypium* analisadas, os autores relataram que a região *ITS* recuperou 100% das espécies de *Gossypium*, os outros *loci* não conseguiram distinguir as espécies, e, não foram testadas combinações multilocus para esse gênero. Ashfaq *et al.*, 2013, testaram as regiões *matK*, *rbcL* e *ITS2* para 25 espécies de *Gossypium*, obtendo melhor resolução para o uso de marcadores combinados, porém, essa

combinação não foi capaz de diferenciar todas as espécies de *Gossypium*, apesar de ter sido eficiente para separar a espécies por genoma.

2.8 IMPLICAÇÕES DOS CONHECIMENTOS DE EVOLUÇÃO PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO

O melhoramento genético também se baseia na história evolutiva das espécies. Por isso, para a realização de trabalhos de melhoramento genético de plantas cultivadas, é fundamental conhecer a história evolutiva das culturas, assim como também, a base genética dos fatores que limitam a produção e o perfil de adaptação das espécies, que são fundamentais para o melhoramento futuro dessas espécies (ABBO; LEV-YADUN; GOPHER, 2019). Assim, quanto mais informações a respeito dos grupos de plantas próximos da espécie cultivada, maior é o subsídio que se tem para conduzir programas de melhoramento genético das espécies. Nesse sentido, a bioinformática apresenta um papel importante, pois possui vasto uso e aplicação em diversos campos de estudos, através das ferramentas de tecnologias usadas para facilitar as mais variadas pesquisas (KUSHWAHA *et al.*, 2017).

O avanço das tecnologias na área da bioinformática tem proporcionado cada vez mais ferramentas para o estudo do genoma das plantas, como por exemplo, da estrutura e função de diversos genes e proteínas, que servem como base fundamental para a criação de plantas superiores, bem como, traçar ações de proteção da biodiversidade (VASSILEV *et al.*, 2010). O uso de ferramentas como o sequenciamento de genomas, tem propiciado o conhecimento sobre organismos conhecidos como “organismo modelo”, através do qual se torna possível obter informações sobre as mais variadas características que são muito úteis em diversas pesquisas experimentais para o melhoramento genético, como o conhecimento sobre espécies de ciclo de vida curto (precoce), espécies de porte pequeno, espécies com resistência a doenças, entre outras características, as quais são bastante valiosas na análise e no desenvolvimento de novas culturas ou culturas melhoradas (VASSILEV *et al.*, 2005). Quanto às sequências dos genomas das plantas, as análises relacionadas ao seu conteúdo, tamanho e variação, podem ser utilizadas para a classificação das espécies, e, distinção entre espécies e subespécies (LOUREIRO *et al.*, 2010). Sendo assim, a bioinformática apresenta um papel crucial na área de melhoramento de plantas, tornando possível o desenvolvimento e uso de ferramentas para diagnóstico de diversas espécies de plantas (KUSHWAHA *et al.*, 2017).

As análises de filogenia e evolução das espécies também podem contribuir para preservação e conservação dos recursos genéticos. Segundo dados do Livro vermelho da Flora

do Brasil, algumas das espécies de Malvaceae, dos gêneros *Abutilon*, *Pavonia*, *Calyculogyas*, *Calyptraemalva*, *Hochreutinera* e *Monteiroa*, encontram-se em risco de extinção (BOVINI *et al.*, 2013). Se tratando de Malvaceae, se tem relatos de alguns gêneros endêmicos de pequenas ilhas, que estão ameaçados de extinção, mas esse número de espécies ameaçadas ou praticamente extintas ainda é pouco conhecido devido a falta de maiores informações sobre o levantamento dessas espécies e os locais de ocorrência (BAYER; KUBITZKI, 2003). Um dos principais fatores que propiciam a extinção das espécies é o fator de mudanças climáticas, que pode ser avaliado através da análise da distribuição filogenética das espécies, pois esses resultados são úteis para visualização das espécies com maior risco de extinção, à medida que as mudanças climáticas ocorrem (DAVIS *et al.*, 2010).

Os dados sobre filogenia fornecem embasamento para a reconstrução da história evolutiva dos organismos e de suas relações genéticas, podendo prever características em comum entre as espécies, assim como fornecer informações sobre o fluxo gênico que ocorre entre elas, tornando possível a exploração desses conhecimentos para o desenvolvimento de novas cultivares, com maior qualidade, maior produtividade, redução de uso de insumos e menor custo ambiental, promovendo também o desenvolvimento de outras ferramentas de diagnóstico de plantas (KUMARI; SHEORAN; RANI, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar análises na área de genômica comparativa e de filogenia de espécies da família Malvaceae, com base em marcadores plastidiais, visando uma melhor compreensão sobre as questões filogenéticas ainda existentes dentro desse grupo e o tempo em que ocorreu a sua diversificação, bem como, indicar possíveis marcadores para DNA *barcode* do gênero *Gossypium*, a partir de sequências plastidiais disponíveis em bancos de dados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar a estrutura e o conteúdo gênico dos genomas plastidiais completos de espécies da família Malvaceae, a partir de sequências coletadas no banco de dados *GenBank*;
- b) Realizar o estudo da filogenia entre as espécies da família Malvaceae e de outras espécies, disponíveis no banco de dados;

- c) Estimar o tempo de divergência dentro da família;
- d) Indicar sequências para DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*;

4. HIPOTESES

- a) Marcadores plastidiais são ferramentas úteis para análises filogenéticas da família Malvaceae;
- b) O uso de quatro marcadores do cpDNA (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) são capazes de resolver questões filogenéticas da família Malvaceae;
- c) Os 11 *loci* do cpDNA são eficientes para diferenciar espécies do gênero *Gossypium*;

REFERÊNCIAS

- ABBO, S.; LEV-YADUN, S.; GOPHER, A. Plant Domestication and Crop Evolution in the Near East: On Events and Processes. **CRC Crit. Ver. Plant Sci.**, Londres, v. 31, n. 3, p. 241-257, 2012. DOI 10.1080 / 07352689.2011.645428. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352689.2011.645428>. Acesso em: 05 set. 2021.
- ABDULLAH, F. M. *et al.* Chloroplast genome of *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae): comparative analyses and identification of mutational hotspots. **Genomics**, San Diego, v. 112, n.1, p. 581-591, 2019. ISSN 0888-7543. DOI 10.1016/j.ygeno.2019.04.010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088875431930062X>. Acesso em: 17 jan. 2021.
- ADAMS, K. L.; WENDEL, J. F. Exploring the genomic mysteries of polyploidy in cotton. **Biol. J. Linn. Soc.**, Oxford, v. 82, p. 573-581, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/227670475_Adams_KL_Wendel_JF_Exploring_the_genomic_mysteries_of_polyploidy_in_cotton_Biol_J_Linn_Soc_82_573-581. Acesso em: 26 set. 2021.
- ALVERSON, W. S.; WHITLOCK, B. A.; NYFFELER, R.; BAYER, C.; BAUM, D.A. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. **Am. J. Bot.**, Lancaster, v. 86, n. 10, p. 1474-1486, 1999. DOI 10.2307/2656928. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/237669521_Phylogeny_of_the_core_Malvales_from_NDHL_sequence_data. Acesso em: 13 mar. 2021.
- ANDRADE, M. A.; SANDER, C. Bioinformatics: from genome data to biological knowledge. **Curr. Opin. Biotechnol.**, London, v. 8, p. 675-683, 1997, Issue 6. ISSN 0958-1669. DOI 10.1016/S0958-1669(97)80118-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166997801188?via%3Dihub>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An ordinal classification for the families of flowering plants. **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 85, n. 4, p. 531-553, 1998. DOI 10.2307/2992015. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/2992015?origin=crossref&seq=1#metadata_info_tab_contents. Acesso em: 18 jan. 2021.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II, **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 141, p. 399-436, 2003, Issue 4. DOI 10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x. Disponível em: <https://academic.oup.com/botlinnean/article/141/4/399/2433548>. Acesso em: 18 jan. 2021.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009. DOI 10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/268391322>. Acesso em: 18 jan. 2021.

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 181, p. 1-20, 2016, Issue 1. DOI 10.1111/boj.12385. Disponível em: <https://academic.oup.com/botlinnean/article/181/1/1/2416499>. Acesso em: 18 jan. 2021.

ARECES-BERAZAIN, F; ACKERMAN, J. D. Phylogenetics, delimitation and historical biogeography of the pantropical tree genus *Thespesia* (Malvaceae, *Gossypieae*). **Bot. J. Linn. Soc.**, Oxford, v. 181, p. 171-198, 2016. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Phylogenetics%2C-delimitation-and-historical-of-the-ARECES-BERAZAIN-Ackerman/2635a8a3550c5007d6e1d176e660d612f97b59dd>. Acesso em: 04 fev. 2022.

ASHFAQ, M.; ASIF, M.; ANJUM, Z. I.; ZAFAR, Y. Evaluating the capacity of plant DNA barcodes to discriminate species of cotton (*Gossypium*: Malvaceae). **Mol. Ecol. Resour.**, Oxford, v. 13, p. 573-582, 2013. DOI 10.1111/1755-0998.12089. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1755-0998.12089>. Acesso em: 17 jan. 2021.

BARROS, F.; PINHEIRO, F.; LOURENÇO, R. A. Orquídeas. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica Brasília, 2008. p. 619-650. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/746617/origem-e-evolucao-de-plantas-cultivadas>. Acesso em: 04 set. 2021.

BASIBUYUK, H. H.; QUICKE, D. L. J. Morphology of the antenna cleaner in the Hymenoptera with particular reference to non-aculeate families (Insecta). **Zool. Scr**, Estocolmo, v. 24, p. 157-177, 1995. Disponível em: https://www.academia.edu/es/4745364/Morphology_of_the_antenna_cleaner_in_the_Hymenoptera_with_particular_reference_to_non_aculeate_families_Insecta. Acesso em: 11 abr. 2022.

BASIBUYUK, H. H.; QUICKE, D. L. J. Grooming behaviours in the Hymenoptera (Insecta): potential phylogenetic significance. **Zool. J. Linn. Soc.**, v. 125, p. 349-382, 1999. DOI 10.1006/zjls.1997.0167. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024408297901679>.

BASIBUYUK, H.; BELSHAW, R.; BARDAKCI, F.; QUICKE, D. **Phylogenetic Systematics**. Versão online. 2015. 85 p. DOI 10.13140/RG.2.1.5013.3203. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283053224_Phylogenetic_Systematics. Acesso em: 07 abr. 2022.

BAYER, C. *et al.* Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed order Malvales: a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* DNA

sequences. **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 129, p. 267-303, 1999, Issue 4. ISSN 0024-4074. DOI 10.1006/bojl.1998.0226. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/238420331_Support_for_an_expanded_family_concept_of_Malvaceae_within_a_recircumscribed_order_Malvales_A_combined_analysis_of_plastid_atpB_and_rbcL_DNA_sequences. Acesso em: 18 jan. 2021.

BAYER, C. E; KUBITZKI, K. Malvaceae. *In*: KUBITZKI, K. **The Families and Genera of Vascular Plants, Malvales, Capparales and Non-Betalain Caryophyllales**. Berlin: Springer, 2003. p. 225-311. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/bfm%3A978-3-662-07255-4%2F1.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2021

BENSON, D. A. *et al.* *GenBank*. **Nucleic Acids Res.**, Oxford, v. 41, p. 1-7, 2013. Database Issue: D36-42. DOI 10.1093/nar/gks1195. PMID: 23193287. PMCID: PMC3531190. Disponível em: <https://europepmc.org/article/MED/23193287>. Acesso em: 19 jan. 2021.

BERRY, P. E. Malvaceae. **Encyclopedia Britannica**. Edimburgo. 2015 May. Disponível em: <https://www.britannica.com/plant/Malvaceae>. Acesso em: 03 abr. 2021.

BOCK, R. Structure, function, and inheritance of plastid genomes. *In*: BOCK, R. **Cell and molecular biology of plastids. Top. Curr. Genet.**, v. 19. Berlin: Springer, 2007. p. 29-63. DOI 10.1007/4735_2007_0223. ISBN: 978-3-540-75375-9. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/4735_2007_0223. Acesso em: 03 maio 2021.

BOVINI, M. G.; SFAIR, J. C.; COELHO, M. A.; PENEDO, T. S. Malvaceae. *In*: ANDERSON, F.; HIEATT, C. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. p. 664-667. Disponível em: <http://ckan.jbrj.gov.br/dataset/23f2e24c-5676-4acd-83f0-03621cba4364/resource/1c77ec02-b490-4caa-83dc-33a418488c70/download/livro-vermelho-da-flora-do-brasil--2013.pdf>. Acesso em: 01 out. 2021.

BRUBAKER, C. L.; PATERSON, A. H.; WENDEL, J. F. Comparative genetic mapping of allotetraploid cotton and its diploid progenitors. **Genome**, Ottawa, v. 42, n. 2, p. 184-203, 1999. DOI 10.1139/gen-42-2-184. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/251788528_Brubaker_CL_Paterson_AH_Wendel_J_F_Comparative_genetic_mapping_of_allotetraploid_cotton_and_its_diploid_progenitors_Genome_42_184-203. Acesso em: 15 jan. 2021.

CARVALHO-SOBRINHO, J. G.; ALVERSON, W. S.; ALCANTARA, S.; QUEIROZ, L. P.; MOTA, A. C.; BAUM, D. A. Revisiting the phylogeny of Bombacoideae (Malvaceae): Novel relationships, morphologically cohesive clades, and a new tribal classification based on multilocus phylogenetic analyses. **Mol. Phylogenet. Evol.**, Washington, v. 101, p. 56-74, 2016. DOI 10.1016/j.ympev.2016.05.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790316300872?via%3Dihub>. Acesso em: 17 set. 2021.

CHENG, Y.; ZHANG, L.; QI, J.; ZHANG, L. Complete chloroplast genome sequence of *Hibiscus cannabinus* and comparative analysis of the Malvaceae family. **Front. Genet.**, Lausanne, v. 11, p. 227, 2020. ISSN 1664-8021. DOI 10.3389/fgene.2020.00227. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2020.00227/full>. Acesso em: 02 fev.

2021.

CHRISTENHUSZ, M. J.; BYNG, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, Auckland, v. 261, n. 3, p. 201-217, 2016. DOI

10.11646/phytotaxa.261.3.1. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/303382451_2016_Christenhusz_Byng_number_of_known_plant_species. Acesso em: 18 jan. 2021.

COLE, T. C.; HILGER, H. H.; STEVENS, P. **Angiosperm phylogeny poster (APP) - Flowering plant systematics**. Berlim: Universidade de Missouri-St. Louis, 2019. DOI

10.7287/peerj.preprints.2320. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/330379214_Angiosperm_phylogeny_poster_APP_-_Flowering_plant_systematics_2019. Acesso em: 04 abr. 2021.

COLE, T. C. H. Malvaceae phylogeny poster. 50 Selected Genera of the Mallow Family.

Angiosperm Phylogeny Poster. Berlim: Universidade Livre de Berlim, 2021. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/349959291_MALVACEAE_Phylogeny_Poster_MalvPP_2021?enrichId=rgreq-d84afbd5bea8fc96c374ac4187045adc-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM0OTk1OTI5MTtBUzoxMDI0MDAzOTkyOTc3NDA4QDE2MjExNTI5ODU1Njk%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf

COSTA, L.; OLIVEIRA, A.; CARVALHO-SOBRINHO, J.; SOUZA, G. Comparative cytomolecular analyses reveal karyotype variability related to biogeographic and species richness patterns in Bombacoideae (Malvaceae). **Plant. Syst. Evol.**, New York, v. 303, p. 1131-1144, 2017. DOI 10.1007/s00606-017-1427-6. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00606-017-1427-6>. Acesso em: 09 maio 2021.

CVETKOVIĆ, T. *et al.* Phylogenomics resolves deep subfamilial relationships in Malvaceae s.l. **G3 (Bethesda, Md.)**, Bethesda, v. 11, n. 7, 2021. DOI 10.1093/g3journal/jkab136.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8496235/#jkab136-B67>.

Acesso em: 14 out. 2021.

DAVIS, C. C.; WILLIS, C. G.; PRIMACK, R. B.; MILLER-RUSHING, A. J. The importance of phylogeny to the study of phenological response to global climate change. **Phil. Trans. R. Soc. B.**, Londres, v. 365, n. 1555, p. 3201-3213, 2010. DOI 10.1098/rstb.2010.0130.

Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rstb.2010.0130>. Acesso em: 01 out. 2021.

DINIZ, W. J.; CANDURI, F. Bioinformatics: an overview and its applications. **Genet. Mol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 1-21, 2017. DOI 10.4238/gmr16019645. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/315318890_REVIEW-ARTICLE_Bioinformatics_an_overview_and_its_applications.

Acesso em: 18 abr. 2021.

ELANSARY, H. O.; ASHFAQ, M.; ALI, H. M.; YESSOUFOU, K. The first initiative of DNA barcoding of ornamental plants from Egypt and potential applications in horticulture industry. **Plos One**, San Francisco, v. 12, 2017, e0172170. DOI

10.1371/journal.pone.0172170. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/313478240_The_first_initiative_of_DNA_barcoding_of_ornamental_plants_from_Egypt_and_potential_applications_in_horticulture_industry.

Acesso em: 30 out. 2021.

FERREZ-PEREIRA, H. E.; MÉNDEZ-NATERA, J. R.; ALCORCÉS-DE-GUERRA, N. C. Longitudes cromosômicas dos cultivares de *Gossypium hirsutum* L. y dos ecotipos de *Gossypium barbadense* L. **Acta Biol. Par.**, Curitiba, v. 36, n. 3, p. 151-173, 2007. DOI 10.5380/abpr.v36i0.9683. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/287432379_hmComprimentos_cromossomicos_de_dois_cultivares_de_Gossypium_hirsutum_L_e_dois_ecotipos_de_Gossypium_barbadense_L_hm. Acesso em: 17 mar. 2021.

FREIRE, E. C. **Distribuição, coleta uso e preservação das espécies silvestres de algodão no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2000. 25 p. ISSN 0103-0205. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/14839/1/DOC78.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2021.

GITTLEMAN, J. L. Phylogeny. **Encyclopedia Britannica**. Edimburgo. 2016 Sep. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/phylogeny>. Acesso em: 12 abr. 2022.

GREWAL, A.; KAUR, R. Genetic Diversity in Species of *Abutilon* Mill. from North-West India. **Cytologia**, Tokyo, v. 85, n. 1, p. 45-48, 2020, Issue 1. ISSN 1348-7019. DOI 10.1508/cytologia.85.45. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cytologia/85/1/85_D-19-00088/article/-char/en. Acesso em: 09 maio 2021.

GUAL-DIAZ, M.; DIEGO-PEREZ, N. Diversidad de las subfamilias Grewioideae y Tilioideae (Malvaceae) en Guerrero, México. **Act. Bot. Mex.**, Pátzcuaro, n. 122, p. 33-96, 2018. DOI 10.21829/abm122.2018.1161. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512018000100033. Acesso em: 29 set. 2021.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenet. Genome Res.**, Basel, v. 120, n. 3, p. 339-350, 2008. DOI 10.1159/000121083. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/5346638_Chromosome_numbers_in_plant_cytotaxonomy_Concepts_and_implications. Acesso em: 05 maio 2021.

HAO, C. Chapter 1 - Genomics and Evolution of Medicinal Plants. *In*: HAO, C. **Ranunculales Medicinal Plants**. Londres: Academic Press, 2019. p. 1-33. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128142325000010>. Acesso em: 14 out. 2021.

HEBERT, P. D.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, R. Biological identifications through DNA *barcodes*. **Proc. R. Soc. Lond.**, London, v. 270, p. 313-321, 2003, Issue 1512, série B. DOI 10.1098/rspb.2002.2218. <https://dnabarcoding101.org/files/references/Biological-identifications-through-DNA-barcodes.pdf>. Acesso em: 12 maio 2021.

HECKENHAUER, J. *et al.* Phylogenetic analyses of plastid DNA suggest a diferente interpretation of morphological evolution than those used as the basis for previous classifications of Dipterocarpaceae (Malvales). **Bot. J. Linn. Soc.**, Londres, v. 185, p. 1-26,

2017. DOI 10.1093/botlinnean/box044. Disponível em:

<https://academic.oup.com/botlinnean/article/185/1/1/4077052>. Acesso em: 17 out. 2021.

HEINRICH, M. The identification of medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, Lausanne, v. 111, p. 440, 2007, Issue 2. DOI 10.1016/j.jep.2007.02.009. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037887410700075X>. Acesso em: 29 jan. 2021.

HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, R.; MAGALLÓN, S. The timing of Malvales evolution: Incorporating its extensive fossil record to inform about lineage diversification. **Mol. Phylogenet. Evol.**, Orlando, v. 140, 2019, 106606, ISSN 1055-7903, DOI

10.1016/j.ympev.2019.106606. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790319301150>. Acesso em: 20 set. 2021.

HINSLEY, S. R. Economic uses of Malvaceae-Overview. *In*: HINSLEY, S. R., 2020. **The Malvaceae Info Website**. [s. l.]: HINSLEY, S. R., 2008. Disponível em:

<http://www.malvaceae.info/Economic/Overview.html>. Acesso em: 18 jan. 2021.

HINSLEY, S. R. Malvaceae Info. *In*: HINSLEY, S. R., 2020. **The Malvaceae Info Website**. [s. l.]: HINSLEY, S. R., 2010. Disponível em <http://www.malvaceae.info/>. Acesso em: 10 fev. 2021.

HOLLINGSWORTH, P. M.; GRAHAM, S. W.; LITTLE, D. P. Choosing and using a plant DNA barcode. **Plos One**, San Francisco, v. 6, n. 5, 2011, e19254. DOI 10.1371/journal.pone.0019254. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0019254>. Acesso em: 16 mar. 2021.

IPNI - International Plant Names Index. Versão Online. The Royal Botanic Gardens Key: Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens.

Disponível em: <http://www.ipni.org>. Acesso em: 24 maio 2021.

JANSEN, R. K. *et al.* Methods for obtaining and analyzing whole chloroplast genome sequences. **Methods Enzymol.**, New York, v. 395, p. 348-384, 2005. ISSN 0076-6879.

ISBN: 9780121828004. DOI 10.1016/S0076-6879(05)95020-9. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687905950209?via%3Dihub>. Acesso em: 26 abr. 2021.

JIMENEZ-LOPEZ, J. C.; GACHOMO, E. W.; SHARMA, S. KOTCHONI, S. O. Genome sequencing and next-generation sequence data analysis: a comprehensive compilation of bioinformatics tools and databases. **Am. J. Mol. Biol.**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 115-130, 2013. DOI 10.4236/ajmb.2013.32016. Disponível em:

<https://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=30744>.

Acesso em: 26 abr. 2021.

JOHRI, A; RAGHUVANSHI, R. Floral biology, Pollination and Breeding system in *Alcea rosea* (L.) syn. *Althaea chinensis* Wall. (Malvaceae). **J. Integr. Plant Biol.**, India, v. 6, n. 2, p. 139-144, 2014. DOI 10.14787/ijprb.2014.6.2.139-144. Disponível em:

[http://www.ijprb.com/vol%2011%20\(2\)/11.pdf](http://www.ijprb.com/vol%2011%20(2)/11.pdf). Acesso em: 28 set. 2021.

JUDD, W. S.; MANCHESTER, S. R. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminar cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters. **Brittonia**, New York, v. 49, p. 384-405, 1997. DOI 10.2307/2807839. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.2307/2807839>. Acesso em: 23 jan. 2021.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal** - um Enfoque Filogenético. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p. ISBN 978-85-363-1755-7.

KOLODNER, R.; TEWARI, K. K. Inverted repeats in chloroplast DNA from higher plants. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 76, n. 1, p. 41-45, 1979. DOI 10.1073/pnas.76.1.41. PMID 16592612. PMCID PMC382872. Disponível em: <http://europepmc.org/article/PMC/382872>. Acesso em: 25 abr. 2021.

KREBS, J. E.; GOLDSTEIN, E. S.; KILPATRICK, S. T. **Lewin's Genes XII**. Burlington, Massachusetts: Jones & Bartlett Learning, 2018. 3194 p. ISBN 9781284104493.

KUMARI, S.; SHEORAN, S.; RANI, K. Chapter -9 An insight of bioinformatics in agriculture. In: JANGIR, C. K.; RANI, K.; PARASHAR, A. **Crop Management Under Stress Conditions**. Nova Deli: AkiNik, 2021. p.201-220. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/352738299_Chapter_-_9_An_insight_of_bioinformatics_in_agriculture. Acesso em: 01 out. 2021.

KUSHWAHA, U.; DEO, I.; JAISWAL, J. P.; PRASAD, B. Role of Bioinformatics in Crop Improvement. **Glob. J. Sci. Front. Res.**, Massachusetts, v. 17, p. 13-23, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/314032951_Role_of_Bioinformatics_in_Crop_Improvement. Acesso em: 01 out. 2021.

LEE, S. Y.; NG, W. L.; MAHAT, M. N.; NAZRE, M. DNA Barcoding of the Endangered Aquilaria (Thymelaeaceae) and Its Application in Species Authentication of Agarwood Products Traded in the Market. **PloS one**, San Francisco, v. 11, n. 4, 2016, e0154631. DOI 10.1371/journal.pone.0154631. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/301737535_DNA_Barcoding_of_the_Endangered_Aquilaria_Thymelaeaceae_and_Its_Application_in_Species_Authentication_of_Agarwood_Products_Traded_in_the_Market. Acesso em: 25 set. 2021.

LI, J.; YE, G-Y.; LIU, H-L.; WANG, Z-H. Complete chloroplast genomes of three important species, *Abelmoschus moschatus*, *A. manihot* and *A. sagittifolius*: genome structures, mutational hotspots, comparative and phylogenetic analysis in Malvaceae. **Plos one**, San Francisco, v. 15, n. 11, 2020, e0242591. DOI 10.1371/journal.pone.0242591. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0242591>. Acesso em: 12 fev. 2021.

LIMA, J. B.; BOVINI, M. G.; CONCEIÇÃO, A. S. Bombacoideae, Byttnerioideae, Grewioideae and Helicterioideae (Malvaceae s.l.) in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 3, e20180569, 2019. Epub 19. ISSN 1676-0611. DOI 10.1590/1676-0611-BN-2018-0569 versão online. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bn/a/svgJsvwK8kFqF6smFzLRmQp/?lang=en#https://www.scielo.br/j/>

<bn/a/svgJsvwK8kFqF6smFzLRmQp/?lang=en#>. Acesso em: 25 jan. 2021.

LIU, QING. *et al.* Evolution of the FAD2-1 Fatty Acid Desaturase 5' UTR Intron and the Molecular Systematics of *Gossypium* (Malvaceae). **Am. J. Bot.**, Lancaster, v. 88, n. 1, p. 92-102, 2001. DOI 10.2307/2657130. Disponível em:

https://www.jstor.org/stable/2657130?seq=1&cid=pdf-reference#references_tab_contents.

Acesso em: 11 abr. 2021.

LOPES, S. G. B. C.; CHOW, F. Noções básicas de sistemática filogenética. In: LOPES, S. G. B. C.; CHOW, F.; LAHR, D. J. G.; TURRINI, P. **Diversidade biológica, História da vida na Terra e Bioenergética**. [S.l.: s.n.], 2014. Disponível em:

https://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade_biolologica_filogenia_PLC0019/Bio_Filogenia_top04.pdf. Acesso em: 07 abr. 2022.

LOUREIRO, J. *et al.* The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. **Preslia**, Praha, v. 82, p. 3-21, 2010. Disponível em:

<http://www.preslia.cz/P101Loureiro.pdf>. Acesso em: 01 out. 2021.

LV, Y. *et al.* Characterization of expressed sequence tags from developing fibers of *Gossypium barbadense* and evaluation of insertion-deletion variation in tetraploid cultivated cotton species. **BMC Genom.**, v. 14, n. 170, p. 1-12, 2013. DOI 10.1186/1471-2164-14-170 versão online. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/236051479_Characterization_of_expressed_sequence_tags_from_developing_fibers_of_Gossypium_barbadense_and_evaluation_of_insertion-deletion_variation_in_tetraploid_cultivated_cotton_species. Acesso em: 12 abr. 2021.

MAGALHÃES JÚNIOR, A. M.; OLIVEIRA, A. C. Arroz. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 185-208. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/746617/origem-e-evolucao-de-plantas-cultivadas>. Acesso em: 04 set. 2021.

MAGALLÓN, S. E.; CASTILLO, A. Angiosperm diversification through time. **Am. J. Bot.**, Lancaster, v. 96, p. 349-365, 2009. DOI 10.3732/ajb.0800060. Disponível em:

<https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.0800060>. Acesso em: 20 set. 2021.

MALIGA, P. Engineering the plastid genome of higher plants. **Curr. Opin. Plant. Biol.**, v. 5, p. 164-172, 2002, Issue 2. ISSN 1369-5266. DOI 10.1016/S1369-5266(02)00248-0 versão online. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/11504466_Engineering_the_plastid_genome_of_higher_plants. Acesso em: 24 abr. 2021.

MARÍN, J. Z.; HILARIO, R. F.; ANDINO, O. O. Análisis filogenético de la familia Malvaceae. **OET 2017-18**, [s. l.], p. 221-227, 2017. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/342094932_Analisis_filogenetico_de_la_familia_Malvaceae. Acesso em: 19 jan. 2021.

MORA, N. P.; GONZÁLEZ, F. Novel Structures in Plants, Developmental Evolution of. In: KLIMAN, R. M. **Encyclopedia of Evolutionary Biology**. Oxford: Academic Press,

2016. p. 146-166. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000496001426>. Acesso em: 14 set. 2021.

MORAES, A. P. *et al.* Chromosome number evolution in dalbergioid legumes (Papilionoideae, Leguminosae). **Rev. Bras. Bot.**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 1-13, 2020. DOI 10.1007/s40415-020-00631-6. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/343049025_Chromosome_number_evolution_in_da_lbergioid_legumes_Papilionoideae_Leguminosae. Acesso em: 05 maio 2021.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **NCBI**. Banco de dados. Rockville Pike, 1988. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 nov. 2021.

PALMER, J. D. Comparative organization of chloroplast genomes. **Annu. Rev. Genet.**, Palo Alto, v. 19, n. 1, p. 325-354, 1985. DOI 10.1146/annurev.ge.19.120185.001545. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ge.19.120185.001545>. Acesso em: 22 jan. 2021.

PALMER, J. D.; STEIN, D. B. Conservation of chloroplast genome structure among vascular plants. **Curr. Genet.**, New York, v. 10, p. 823-833, 1986. DOI 10.1007/BF00418529. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00418529>. Acesso em: 22 jan. 2021.

PANG, X. *et al.* Utility of the *trnH-psbA* intergenic spacer region and its combinations as plant DNA *barcodes*: a Meta-Analysis. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 11, 2012, e48833. DOI 10.1371/journal.pone.0048833. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0048833>. Acesso em: 04 abr. 2021.

PERCIVAL, A. E.; STEWART, J. M.; WENDEL, J. F. Taxonomy and germplasm resources. *In*: SMITH, C. W.; COTHREN, J. T. **Cotton; origin, history, technology and production**, Nova York: John Wiley & Sons, 1999. p. 33-63.

PEVSNER, J. **Bioinformatics and functional genomic**. 3. rd. Chichester: John Wiley & Sons Inc., 2015. 1168 p. ISBN 978-1-118-58178-0.

PLANT WORKING GROUP (CBOL). A DNA *barcode* for land plants. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 106, n. 31, p. 12794-12797, 2009. DOI 10.1073/pnas.0905845106. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/106/31/12794>. Acesso em: 16 abr. 2021.

PORDEUS, S. M.; SOBREIRA, F. M.; MELO, J. I. Elevem new records of Malvoideae (Malvaceae) species from Paraíba State, Brazil. **Harv. Pap. Bot.**, Cambridge, v. 23, n. 2, p. 295-300, 2018. DOI 10.3100/hpib.v23iss2.2018.n14. Disponível em: https://huh.harvard.edu/files/herbaria/files/23_2_295_14_pordeus_etal.pdf. Acesso em: 28 set. 2021.

POWO - Plants of the World Online. Versão Online. The Royal Botanic Gardens Key: Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>. Acesso em: 17 set. 2021.

PROSDOCIMI, F. *et al.* Bioinformática: manual do usuário. **Biociência**, Brasília, v. 29, p. 12-25, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/259903303_Bioinformatica_manual_do_usuario. Acesso em: 12 abr. 2021.

RANI, S.; GUPTA, O. P. Study and analysis of various bioinformatics applications using protein BLAST: an overview. **Adv. Comput. Sci. Technol.**, Hong Kong, v. 10, n. 8, p. 2587-2601, 2017. ISSN 0973-6107. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/320161397_Study_and_Analysis_of_Various_Bioinformatics_Applications_using_Protein_BLAST_An_Overview. Acesso em: 21 abr. 2021.

RAUSCH, Hen Tobias. **Dissecting multiple sequence alignment methods**: the analysis, design and development of generic multiple sequence alignment components in SeqAn. 2010. 194 f. Dissertação (Mestrado em Matemática e Ciência da Computação) – Departamento de Matemática e Ciência da Computação, Universidade de Berlim, Berlim, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/50316652_Dissecting_multiple_sequence_alignment_methods_the_analysis_design_and_development_of_generic_multiple_sequence_alignment_components_in_SeqAn. Acesso em: 19 abr. 2021.

ROY, S. *et al.* Universal plant DNA *barcode loci* may not work in complex groups: a case study with Indian *Berberis* species. **Plos One**, San Francisco, v. 5, n. 10, 2010, e13674. DOI 10.1371/journal.pone.0013674. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013674>. Acesso em: 02 out. 2021.

RUHSAM, M. *et al.* Does complete plastid genome sequencing improve species discrimination and phylogenetic resolution in *Araucaria*? **Mol. Ecol. Resour.**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 1067-1078, 2015. DOI 10.1111/1755-0998.12375. PMID: 25611173. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/271226672_Does_complete_plastid_genome_sequencing_improve_species_discrimination_and_phylogenetic_resolution_in_Araucaria. Acesso em: 19 abr. 2021.

SANTOS, C. M. D.; KLASSA, B. Sistemática filogenética hennigiana: revolução ou mudança no interior de um paradigma? **Sci. Stud.**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 593-612, 2012. DOI 10.1590/S1678-31662012000300008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ss/a/t8xFzSHMMtfNnbSKN5BcSPz/#>. Acesso em: 07 abr. 2022.

SCARCELLI, N. A Set of 100 Chloroplast DNA Primer Pairs to Study Population Genetics and Phylogeny in Monocotyledons. **Plos one**, San Francisco, v. 6, n. 5, 2011, e19954. DOI 10.1371/journal.pone.0019954. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0019954>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SERENO, M. J.; WIETHÖLTER, P.; TERRA, T. F. Domesticação das plantas. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 37-58. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/746617/origem-e-evolucao-de-plantas-cultivadas>. Acesso em: 04 set. 2021.

SHIMADA, H.; SUGIURA, M. Fine estruturais features of the chloroplast genome: compare of the sequenced chloroplast genomes. **Nucleic. Acids. Res.**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 983-995, 1991. DOI 10.1093/nar/19.5.983. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/articleabstract/19/5/983/1090728?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 28 abr. 2021.

SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. Plant genomes: markers of evolutionary history and drivers of evolutionary change. **Plants People Planet**, Lancaster, v. 3, p. 74-82, 2020. DOI 10.1002/ppp3.10159. Disponível em: [Plant genomes: Markers of evolutionary history and drivers of evolutionary change - Soltis - 2021 - PLANTS, PEOPLE, PLANET - Wiley Online Library](#). Acesso em: 22 jul. 2021.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2012. 768p.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Versão Online. St. Louis, EUA: University of Missouri, Missouri Botanical Garden, 2021. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 17 set. 2021.

THE BRAZILIAN FLORA GROUP (BFG). Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015. DOI 10.1590/2175-7860201566411. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/288181181_Growing_knowledge_an_overview_of_seed_plant_diversity_in_Brazil. Acesso em: 23 jan. 2021.

TWYFORD, A. D.; NESS, R. W. Strategies for complete plastid genome sequencing. **Mol. Ecol. Resour.**, Oxford, v. 17, p. 858-868, 2017. DOI 10.1111/1755-0998.12626. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1755-0998.12626>. Acesso em: 26 abr. 2021.

VALICEK, P. Wild and Cultivated cottons. **Cotton Fiber Tropical**, v. 33, p. 363-385, 1978.

VASSILEV, D.; LEUNISSEN, J.; ATANASSOV, A.; NENOV, A. DIMOV, G. Application of Bioinformatics in Plant Breeding. **Biotechnol.**, Bulgária, v. 19, n. 3, p. 139-152, 2005. DOI 10.1080/13102818.2005.10817293. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/40117914_Application_of_Bioinformatics_in_Plant_Breeding. Acesso em: 01 out. 2021.

VASSILEV, D.; DIMOV, G.; POPOV, I.; ATANASSOV, A. Bioinformatics Research and Perspective in Agro Bio Institute. **Biotechnol.**, Bulgária, v. 24, p. 2172-2176, 2010. DOI 10.2478/V10133-010-0094-3. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/271002053_Bioinformatics_Research_and_Perspectives_in_Agro_Bio_Institute. Acesso em: 01 out. 2021.

WAKASUGI, T.; TSUDZUKI, T.; SUGIURA, M. The genomics of land plant chloroplasts: gene content and alteration of genomic information by RNA Edit. **Photosyn. Res.**, Dordrecht, v. 70, p. 107-118, 2001. DOI 10.1023/A:1013892009589. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1013892009589>. Acesso em: 28 abr. 2021.

WANG, J-H; MOORE, M.J.; WANG, H.; ZHU, Z.X.; WANG, H-F. Plastome evolution and phylogenetic relationships among Malvaceae subfamilies. **Gene**, Burlington, v. 765, p.1-15, 2021. DOI 10.1016/j.gene.2020.145103. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378111920307721?via%3Dihub>. Acesso em: 12 set. 2021.

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. Malvales. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval**. Version online. 1992. Disponível em: <https://www.delta-intkey.com/angio/www/malvacea.htm>. Acesso em: 16 ago. 2021.

WEIGMANN, H-D. H. Cotton, fibre and plant. **Encyclopedia Britannica**. Edimburgo. 2021 Mar. Disponível em: <https://www.britannica.com/topic/cotton-fibre-and-plant>. Acesso em: 07 abr. 2021.

WENDEL, J. F.; CRONN, R. C. Polyploidy and the evolutionary dispersed repetitive DNA has spread to new genomes since polyhistory of cotton. **Adv. Agron.**, San Diego, v. 78, p. 139-186, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/282161929_Polyploidy_and_the_evolutionary_history_of_cotton. Acesso em: 30 set. 2021.

WU, Y. *et al.* Comparative chloroplast genomics of *Gossypium* species: insights into repeat sequence variations and phylogeny. **Front. Plant. Sci.**, Lausanne, v. 9, p. 376, 2018. DOI 10.3389/fpls.2018.00376. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323914029_Comparative_Chloroplast_Genomics_of_Gossypium_Species_Insights_Into_Repeat_Sequence_Variations_and_Phylogeny. Acesso em: 02 mar. 2021.

CAPÍTULO II

Este artigo será submetido para revista Scientia Agricola

(Qualis A1)

1 **Filogenia da família Malvaceae e DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*.**

2 **Genômica comparativa e filogenia de Malvaceae.**

3 Ana Kelly dos Santos Maia^{1*}, Rômulo Maciel de Moraes Filho², Edson Ferreira da
4 Silva³.

5 ¹ Programa de pós-graduação em Agronomia – Melhoramento genético de plantas,
6 Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),
7 Recife, Pernambuco, Brasil. *kelly.maia@ufrpe.br

8 ² Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),
9 Recife, Pernambuco, Brasil.

10 ³ Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),
11 Recife, Pernambuco, Brasil.

12 **RESUMO**

13 A família Malvaceae apresenta alta diversidade e inclui um grande número de espécies,
14 dentre as quais, o algodão, cacau, quiabo e hibisco possuem importância econômica. A
15 classificação dessa família passou por mudanças nos últimos anos, que levaram a sua
16 recircunscrição. Os trabalhos recentes de filogenia têm sido focados em resolver as
17 relações entre as subfamílias de Malvaceae, sendo essas, pouco resolvidas. Neste
18 estudo, foram utilizadas 102 sequências de nove subfamílias de Malvaceae e o grupo
19 externo, com quatro *loci* (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) de DNA de cloroplasto. Os
20 plastomas de Malvaceae demonstraram alta conservação e similaridade. A análise de
21 verossimilhança resultou em uma árvore monofilética, confirmando a divisão da família
22 em dois principais clados bem suportados, Malvadendrina e Byttneriina. Em

23 Malvadendrina, foi evidenciada relação de grupo irmão, de Malvatheca com o clado das
24 subfamílias Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae e
25 Sterculioideae, com alto suporte. O clado Malvatheca é suportado pela presença de
26 anteras monotecais e a ausência de androginóforo. A última característica também
27 suporta sua relação próxima a Dombeyoideae. Filogenia pouco resolvida entre as
28 subfamílias Brownlowioideae, Helicteroideae, Tiliodeae e Sterculioideae foi
29 evidenciada. O clado Byttneriina foi fortemente suportado. A análise do tempo de
30 divergência sugeriu que as subfamílias de Malvaceae divergiram a partir do Paleoceno.
31 A análise de DNA *barcode* através dos 11 *loci* do cpDNA revelou que as espécies de
32 *Gossypium* foram agrupadas em relação ao tipo de genoma e a origem geográfica,
33 entretanto, o uso dessas regiões não foi útil para a discriminação dentro de espécies.

34 **Palavras-chave:** Plastomas, Árvore filogenética, tempo de divergência, identificação de
35 espécies, algodão.

36 **Introdução**

37 A família Malvaceae pertence à ordem Malvales, possui aproximadamente 244
38 gêneros e 4.225 espécies (Christenhusz e Byng, 2016), as quais apresentam grande
39 importância econômica, como medicinais (*Pseudobombax marginatum* e *Thespesia*
40 *populnea*), alimentícias (*Theobroma cacao* L. e *Hibiscus esculentus* L.), ornamentais
41 (espécies dos gêneros *Tilia*, *Firmiana* e *Malvaviscus*) e industriais (espécies dos gêneros
42 *Gossypium*, *Ceiba* e *Bombax*) (Judd *et al.*, 2009; Paiva *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2018).

43 A classificação da família Malvaceae passou por diversas modificações quanto
44 às relações filogenéticas (APG IV, 2016; Bayer *et al.*, 1999; Cole *et al.*, 2019). Os
45 estudos sobre filogenia de Malvaceae têm evidenciado uma complexa história evolutiva

46 e relações não totalmente esclarecidas (Alverson *et al.*, 1999; Bayer *et al.*, 1999;
47 Conover *et al.*, 2019; Judd e Manchester, 1997). Marcadores de DNA de genoma
48 plastidial (cpDNA) tem sido bastante úteis para os estudos de filogenia, pois o cpDNA
49 apresenta tamanho e estrutura bem conservada, herança uniparental (materna) e é
50 abundante nas células (Soltis e Soltis, 2020). Apesar dos diversos estudos de filogenia e
51 diversificação de Malvaceae, os resultados evidenciam a necessidade de novos estudos
52 filogenéticos, incluindo maior quantidade de dados genômicos, para melhor
53 compreender as inter-relações dentro desta família (Hernández-Gutiérrez e Magallón,
54 2019; Richardson *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2021).

55 Os marcadores do cpDNA também podem ser utilizados para análises de DNA
56 *barcode* (Chase *et al.*, 2016; Vassou *et al.*, 2015), técnica descrita por Hebert *et al.*
57 (2003), para discriminação de diversas espécies. Trabalhos com DNA *barcode* de
58 *Gossypium* têm sido desenvolvidos em busca de marcadores universais para
59 identificação rápida e precisa dessas espécies, além de baixo custo, ainda não sendo
60 possível a indicação de regiões universais do cpDNA para espécies desse gênero
61 (Ashfaq *et al.*, 2013; Roy *et al.*, 2010). Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar o
62 estudo da filogenia de espécies da família Malvaceae e estimar o tempo de divergência
63 entre as espécies, através de sequências de marcadores plastidiais, visando compreender
64 a história evolutiva da família. O trabalho também teve como objetivo, analisar
65 marcadores plastidiais para uso como DNA *barcode* de espécies do gênero *Gossypium*.

66 **Materiais e métodos**

67 **Obtenção das sequências de genomas plastidiais**

68 As sequências de genoma plastidiais completos de 102 espécies foram obtidas
69 através da ferramenta BLAST do banco de dados *Genbank* no NCBI (*National Center for*

70 *Biotechnology Information*, 2021). Destas, 96 sequências são das espécies da família
71 Malvaceae (ordem Malvales) e as outras seis do grupo externo, sendo duas sequências
72 de espécies da família Thymelaeaceae (ordem Malvales), duas da família Caricaceae
73 (ordem Brassicales), uma da família Moringaceae (ordem Brassicales) e uma da família
74 Simaroubaceae (ordem Sapindales) (Tabela 1). Também foram obtidas as sequências de
75 quatro genes do cpDNA (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*), de cada espécie. Algumas dessas
76 sequências foram ajustadas para a conversão em complemento reverso, realizado
77 através da ferramenta Reverse complement (Reverse complement, 2021).

78 **Obtenção dos dados das sequências**

79 Os números cromossômicos das espécies foram obtidos de informações
80 disponíveis na literatura e nos bancos de dados CCDB (The Chromosome Counts
81 Database, 2015) e IPCN (Index to Plant Chromosome Numbers, 2021). Os nomes das
82 espécies foram confirmados usando a ferramenta WFO (World Flora Online, 2021) para
83 verificar também as espécies com sinonimias. Na ferramenta GeSeq do Chlorobox
84 (Chlorobox, 2021) foram coletadas as demais informações das sequências, tais como,
85 comprimento da sequência em pares de bases (PB), número de genes codificadores de
86 proteínas (CDS), número de RNA ribossomal (rRNA) e número de RNA transportador
87 (tRNA). A porcentagem de guanina citosina (GC%) foi calculada usando a ferramenta
88 Science buddies (Science buddies, 2021) (Tabela 1).

89 **Alinhamento das sequências de genomas plastidiais**

90 O alinhamento dos genomas plastidiais completos de 27 espécies foi realizado
91 no servidor mVISTA (VISTA, 2013) utilizando o algoritmo LAGAN e parâmetros
92 padrões, para verificar o percentual de identidade das sequências das espécies em
93 relação a espécie *G. hirsutum*. O servidor OGDRAW (Organelar Genome DRAW,

94 2021) do Chlorobox foi utilizado para elaborar a representação gráfica em forma linear,
95 do genoma da espécie *G. hirsutum*, a qual foi usada como referência na anotação do
96 genoma, para verificar a ocorrência de inversões (Figura 1). Para anotação do genoma,
97 foi utilizado a ferramenta GeSeq disponível no Chlorobox.

98 **Análise filogenética**

99 Para análise filogenética, foram utilizadas as sequências dos quatro genes (*matK*,
100 *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) das 102 espécies. Foi realizado um alinhamento preliminar das
101 sequências de cada região, para verificação dessas sequências. As sequências
102 concatenadas foram alinhadas para a obtenção da árvore filogenética através do método
103 estatístico Máxima verossimilhança, com suporte estatístico de 1000 *bootstrap*, no
104 software MEGA7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, versão 7.0). Os valores
105 de *bootstrap* (BS) foram utilizados como parâmetro para verificação da acurácia dos
106 dados, sendo os valores de 90-100 considerados fortemente suportados, de 70-89
107 moderadamente suportados e de 50-69 fracamente suportados. O modelo de substituição
108 com melhor resultado obtido no software MEGA7, foi o GTR (G +I) (General Time
109 Reversible). Também foram obtidos os valores dos sítios variáveis (V) e sítios de
110 parcimônia informativos (PI) das 102 espécies através do software MEGA7 (Tabela 2).

111 **Análise do tempo de divergência entre os táxons**

112 Para análise do tempo de divergência entre as espécies de Malvaceae (Figura 3),
113 foi realizada pesquisa para obtenção de dados do tempo de divergência estimado entre
114 os pares de espécies, atribuindo idade aos nós de alguns clados, através do servidor
115 NODE TIME, do software TIMETREE (The timescale of life, 2021). Foi obtida a
116 variação mínima e máxima das idades em milhões de anos (Ma) de alguns nós entre as
117 espécies de Malvaceae para utilização como pontos de calibração. Foram escolhidos

118 seis pontos de calibração, com a menor variação encontrada, utilizadas como parâmetro
119 na análise: *G. raimondii* e *G. herbaceum* (3,9-17,8 Ma), *G. darwinii* e *G. hirsutum*
120 (0,300-2,540 Ma), *Hibiscus rosa-sinensis* e *Hibiscus cannabinus* (24,9-39,5 Ma),
121 *Abelmoschus manihot* e *Talipariti tiliaceum* (21,43-31,69 Ma), *Bombax buonopozense* e
122 *Corchorus capsularis* (30-60 Ma), *Abutilon theophrasti* e *Malva parviflora* (28,6-43,9
123 Ma). Para obtenção da árvore relacionada ao tempo de divergência entre as espécies foi
124 utilizado o software MEGA7 (Figura 3). Nesta análise, foram considerados os seguintes
125 parâmetros: método estatístico de Máxima verossimilhança e modelo GTR (General
126 Time Reversible).

127 **Análise de dados de DNA *barcode***

128 Para análise dos marcadores plastidiais de DNA *barcode*, as sequências de dez
129 regiões gênicas (*accD*, *atpA*, *atpB*, *matK*, *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rbcL*, *rpoA* e *rpoC2*) e uma
130 região intergênica (*trnH-psbA*) do cpDNA de 46 sequências de espécies de Malvaceae
131 do *Genbank* foram utilizadas. Destas, 43 sequências pertencem a espécies do gênero
132 *Gossypium* e três espécies pertencem a outros gêneros da família Malvaceae (*Bombax*
133 *buonopozense*, *Reevesia botingensis* e *Thespesia populnea*), utilizadas como grupo
134 externo. As sequências também foram verificadas em um alinhamento preliminar. O
135 alinhamento das sequências das 11 regiões concatenadas foi realizado usando algoritmo
136 MUSCLE implementado no MEGA7. Para obtenção da árvore foi usado o método
137 estatístico Máxima verossimilhança, com teste de 1000 *bootstrap*, modelo GTR (G +I)
138 (General Time Reversible), com deleção parcial. Também foram obtidos os valores dos
139 sítios variáveis (V) e sítios de parcimônia informativos (PI) das 46 espécies através do
140 software MEGA7 (Tabela 2).

141 **Resultados**

142 **Informações das sequências de genomas plastidiais**

143 Na tabela 1, são apresentadas as características das sequências do genoma
144 plastidial das espécies utilizadas neste trabalho. As sequências das espécies de
145 Malvaceae apresentaram ampla variação no tamanho do genoma, sendo a espécie
146 *Pachira macrocarpa* a de menor tamanho (157.936 pb) e *Heritiera angustata*, o maior
147 (168.953 pb), evidenciando uma diferença de 11.017 pb. Comparando as sequências das
148 espécies, algumas apresentaram baixa diferença no comprimento de sequência, 1 pb
149 entre *G. hirsutum* e *G. aridum* (160.256 e 160.257 pb, respectivamente), *G. barbadense*
150 cultivar *Kaiyuan* e *G. barbadense* cultivar *Yuanmou* (160.290 e 160.291 pb,
151 respectivamente), *Reevesia botingensis* e *G. harknessii* (160.128 e 160.129 pb,
152 respectivamente), *T. taishanensis* e *T. mongolica* (162.803 e 162.804 pb,
153 respectivamente). A espécie *Aquilaria rostrata*, da família Thymelaeaceae, utilizada
154 como grupo externo, apresentou maior tamanho de genoma (174.693 pb).

155 Em relação ao valor de GC, a variação foi de 35,8% (*Durio zibethinus*) a 37,4%
156 (para espécies do gênero *Gossypium*). O maior valor de GC foi observado no plastoma
157 da espécie do grupo externo, *Ailanthus altissima* (37,6%). A predição do número de
158 genes codificadores de proteínas (CDS) variou de 107 a 124. Não houve variação
159 quanto ao número de RNA ribossomal, foi observado o valor de 8 rRNA para todas as
160 espécies. O número de RNA transportador (tRNA) variou de 31 a 34 entre as espécies.
161 O número de cromossomos das espécies estudadas apresentou variação de 7 (*Corchorus*
162 *capsularis*, *Corchorus olitorius* e *Sida szechuensis*) a 82 (nas espécies do gênero *Tilia*)
163 (Tabela 1).

164 **Comparação genômica de plastomas de espécies da família Malvaceae**

165 Para análise e comparação das sequências plastidiais, foi utilizado o gráfico

166 VISTA dos plastomas de 27 espécies e a espécie *G. Hirsutum* como referência. Através
167 do gráfico VISTA foi possível visualizar as regiões codificantes (na cor azul) e não
168 codificantes (na cor rosa). Também foi possível observar a ocorrência de inversões e
169 rearranjos nos genomas das espécies de Malvaceae, em comparação com a espécie *G.*
170 *Hirsutum*, principalmente na região dos genes *ycf1* e *ndhF*. As espécies *Aquilaria*
171 *rostrata* e *Phaleria macrocarpa*, utilizadas como grupo externo, apresentaram alto grau
172 de divergência em relação às espécies de Malvaceae (Figura 1). Os maiores pontos de
173 divergência ocorrem em regiões intergênicas. Outros pontos de divergência ocorrem
174 entre os genes *ycf1* e *ndhF*. Dentre os genes que apresentaram pontos de divergência, os
175 genes *matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*, foram selecionados para análise filogenética.

176 O conjunto total de dados combinados (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) gerou uma
177 matriz de alinhamento com 7.142 pb, dos quais o número de sítios variáveis (V) foi
178 2.177 pb para o total de espécies (102 sequências) e de 1.470 pb para as espécies de
179 Malvaceae, excluindo o *outgroup*. O número de sítios de parcimônia informativa (PI)
180 foi de 1.478 pb para as sequências de todas as espécies e de 1.011 pb para espécies de
181 Malvaceae, sem *outgroup* (Tabela 2).

182 **Filogenia da família Malvaceae**

183 A análise filogenética das espécies da família Malvaceae resultou em uma árvore
184 monofilética, na qual separa a família em dois clados principais, Malvadendrina e
185 Byttneriina (BS= 100%), mais o grupo externo (Figura 2). O grupo das espécies
186 externas (*outgroup*) mostrou-se claramente separado das espécies de Malvaceae,
187 apresentando alto valor de suporte de *bootstrap* (100%). Para as espécies pertencentes à
188 família Malvaceae, a árvore apresentou a formação de nove grupos distintos, sendo sete
189 grupos pertencentes ao clado Malvadendrina (Malvoideae, Bombacoideae,

190 Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae) e dois
191 pertencentes ao seu grupo irmão, o clado Byttneriina (Grewioideae e Byttnerioideae). O
192 clado Malvadendrina apresentou o maior número de espécies e de subfamílias. Em
193 nosso estudo, a subfamília Malvoideae foi representada com o maior número de
194 espécies. As subfamílias Grewioideae e Byttnerioideae (clado Byttneriina) se
195 apresentaram bem relacionadas (BS= 100%).

196 No clado Malvadendrina, o clado Malvatheca (Malvoideae e Bombacoideae)
197 apresentou suporte fraco (BS= 66%) e sua relação com as demais subfamílias
198 (Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae) foi
199 altamente suportada (BS= 100%). Dentro de Malvatheca, a subfamília Malvoideae
200 apresentou alto valor de suporte (BS= 100%), com alguns clados sem suporte entre as
201 espécies de *Gossypium* (BS= 8 a 44%). A subfamília Bombacoideae também apresentou
202 alto valor de *bootstrap* (BS= 99%). Dentro de Bombacoideae, apenas um nó foi
203 fracamente suportado (BS= 61%). Dentro do clado Malvadendrina, a subfamília
204 Dombeyoideae foi recuperada como grupo irmão das subfamílias Brownlowioideae,
205 Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae, com alto valor de suporte (BS= 92%). O
206 grupo da subfamília Brownlowioideae foi fracamente suportado (BS= 54%), em relação
207 ao grupo irmão (Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae). O relacionamento entre os
208 grupos irmãos das subfamílias Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae não
209 apresentou suporte (BS= 33%; 22%).

210 O grupo irmão de Malvadendrina, o clado Byttneriina, composto pelas
211 subfamílias Grewioideae e Byttnerioideae, apresentou alto valor de suporte em todos os
212 nós (BS= 100%). O grupo das espécies externas apresentou alto valor de suporte em
213 relação à Malvaceae (BS= 100%).

214 **Tempo de divergência entre as espécies de Malvaceae**

215 A estimativa de relógio molecular representando o tempo de divergência de 96
216 espécies de Malvaceae com base em quatro regiões gênicas é apresentada na figura 3.
217 Os tempos de divergência são mostrados nos pontos de ramificação, em cada nó da
218 árvore. A diferenciação de Malvaceae que dá origem as nove subfamílias, separando
219 Malvadendrina de Byttneriina ocorreu há 60 Ma, no Paleoceno médio (61,70-58,70
220 Ma). Malvadendrina se diferenciou há 59,45 Ma (Paleoceno médio), separando
221 Malvatheca das demais subfamílias de Malvadendrina. O clado Malvatheca, composto
222 pelas subfamílias Malvoideae e Bombacoideae se diferenciou há 52,51 Ma, no período
223 Eoceno (55,80-33,90 Ma). A separação de Dombeyoideae das subfamílias
224 Brownlowioideae, Helicteroideae, Tilioideae e Sterculioideae ocorreu em 58,29 Ma, no
225 Paleoceno final (58,70-55,80 Ma), seguida por Brownlowioideae, Helicteroideae,
226 Tilioideae e Sterculioideae, que divergiram há 55,66 Ma (início do Eoceno, 55,80-48,60
227 Ma). O clado Byttneriina se diversificou em 54,07 Ma (início do Eoceno), com a
228 diferenciação de Grewioideae e Byttnerioideae.

229 **Análise de marcadores de DNA *barcode* para *Gossypium***

230 O conjunto total de dados combinados gerou uma matriz de alinhamento com
231 17.056 pb, dos quais o número de sítios variáveis (V) obtido foi 1.075 pb para o total de
232 espécies (46 sequências) e de 515 pb para as espécies de *Gossypium*, excluindo o
233 *outgroup*. O número de sítios de parcimônia informativo (PI) foi de 561 pb para o
234 alinhamento de todas as espécies (*Gossypium* e *outgroup*) e de 314 pb para as espécies
235 de *Gossypium*, excluindo o *outgroup* (Tabela 2).

236 A análise das regiões candidatas a DNA *barcode* (*accD*, *atpA*, *atpB*, *matK*,
237 *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rbcL*, *rpoA*, *rpoC2* e *trnH-psbA*), resultou na divisão das espécies de

238 *Gossypium*, em quatro principais grupos, com alto valor de suporte (Figura 4). O
239 primeiro grupo foi formado por espécies dos genomas A, D, AD e F (BS= 97%). As
240 relações entre as espécies de genoma AD apresentaram baixo valor de suporte. A
241 espécie *G. longicalyx* formou grupo irmão das espécies de genoma A, D e AD (BS=
242 100%). O grupo das espécies de genoma D foi bem suportado (BS= 100%), mas a
243 relação entre as espécies *G. lobatum* e *G. schwendimanii* apresentou baixo suporte (BS=
244 31%). O segundo grupo, foi formado por espécies do genoma E (BS= 100%), o terceiro,
245 formado por espécies do genoma B (BS= 100%), o quarto, formado por espécies dos
246 genomas C, G e K (BS= 100%). A espécie *Thespesia populnea* foi mais relacionada as
247 espécies de *Gossypium* e as espécies *Bombax buonopozense* e *Reevesia botingensis*
248 (grupo externo) foram recuperadas com alto valor de suporte (BS= 100%).

249 **Discussão**

250 **Genômica comparativa e filogenia de Malvaceae**

251 Os plastomas das espécies estudadas apresentaram tamanho que variou entre
252 157.936 e 174.693 pb. Wang *et al.* (2021) relataram variação semelhante no tamanho do
253 genoma das espécies de Malvaceae, de 158.997 pb (*Bombax ceiba*) a 168.953 bp
254 (*Heritiera angustata*). Os mesmos autores relataram que não havia diferença no
255 comprimento do genoma das espécies de *Theobroma cacao* (160.619 pb) e *Theobroma*
256 *grandiflorum* (160.619 pb), contrastando com os valores encontrados em nosso estudo,
257 160.619 pb para *T. cacao* e 160.606 pb para *T. grandiflorum*, diferença de 13 pb.
258 Cvetkovic *et al.* (2021), analisaram 24 plastomas de espécies de Malvaceae e
259 encontraram o menor comprimento de sequência para a espécie *Sterculia lanceolata*
260 (151.071 bp). A variação no tamanho dos genomas relatada no presente estudo também
261 foi evidenciada em diversos trabalhos com genoma de espécies de angiospermas (Guo

262 *et al.*, 2021). Os valores aqui encontrados, localizam-se dentro dos valores relatados
263 para angiospermas (107.122 a 217.942 pb), sendo essa variação ocasionada pela
264 evolução do genoma, devido a alterações como expansão/contração de IR e perda/ganho
265 de genes (Jansen e Ruhlman, 2012).

266 Para comparação das características das sequências dos plastomas das espécies
267 apresentadas na tabela 1, foram considerados os números totais de genes, incluindo suas
268 repetições (CDS, rRNA e tRNA). Os valores do conteúdo de GC encontrados para
269 espécies de Malvaceae (35,8% a 37,4%), foram semelhantes aos observados por Wang
270 *et al.* (2021). Os valores de GC observados nos plastomas das espécies analisadas
271 (35,8% a 37,6%) se encontram dentro do padrão de variação relatado por Jansen e
272 Ruhlman (2012), para espécies de plantas com sementes (35 a 40%).

273 Apesar de ser relatado baixo número de cromossomos em angiospermas, menos
274 de 14 pares (Bowers e Paterson, 2021), em Malvaceae, ocorre grande variação (n= 7 a
275 n= 82) (Tabela 1). Essa variação também foi evidenciada nos estudos de Tate *et al.*
276 (2005), no qual buscando compreender as relações filogenéticas entre as espécies da
277 tribo Malveae, avaliou a evolução cromossômica do grupo, relatando uma variação de
278 n= 5 a n= 36 nos números haplóides de cromossomos. A variação no número de
279 cromossomos das espécies de Malvaceae está relacionada aos processos evolutivos
280 ocorridos no grupo, redução aneuploide, hibridização e/ou poliploidização (Tate *et al.*,
281 2005).

282 Conforme gráfico mVista (Figura 1), as espécies da família Malvaceae tiveram
283 organização semelhante, indicando alto nível de conservação. As análises comparativas
284 de sequências dessa família, realizada nos estudos de Cheng *et al.* (2020), também
285 evidenciaram conservação das características das espécies. Comparando os plastomas

286 das espécies de Malvaceae pelo gráfico mVista, foi possível encontrar pontos de
287 divergência entre os genes *ycf1* e *ndhF* (região codificante) e em regiões não
288 codificantes (maior proporção). Nos estudos de Cheng *et al.* (2020), o gene *ycf1*
289 apresentou alta divergência entre as regiões das sequências de espécies de Malvaceae,
290 evidenciando pontos de deleções nesse *locus*. Pontos de divergência nos plastomas das
291 espécies de Malvaceae também foram relatados nos estudos de Wang *et al.* (2021), no
292 qual analisaram o plastoma de 31 espécies de Malvaceae e confirmaram a ocorrência de
293 maiores pontos de divergência em dois genes, *clpP* e *ycf1*, com a maior variação
294 presente nas regiões não codificantes do genoma. As informações contidas nessas
295 regiões podem ser úteis para estudos de filogenia de Malvaceae.

296 A baixa ocorrência de inversões e rearranjos nas sequências gênicas dos
297 genomas estudados, resultaram em similaridade entre as espécies de Malvaceae. A
298 baixa divergência entre os plastomas de Malvaceae também foi relatada em estudos
299 anteriores (Wang *et al.*, 2021). Quanto ao número de sítios de parcimônia informativa
300 (PI), esta análise evidenciou valores superiores ao relatado em outros estudos. Valores
301 de PI inferiores foram relatados nos estudos de Niffeler *et al.* (2005), no qual analisaram
302 35 taxons de Malvaceae e um conjunto de dados de DNA de plastídio combinados, no
303 qual resultou em uma matriz de alinhamento com 7.791 pb no total, incluindo 634 sítios
304 de parcimônia informativa.

305 A análise filogenética de espécies da família Malvaceae (Figura 2), resultou em
306 uma árvore monofilética. A monofilia da família Malvaceae também foi evidenciada em
307 estudos anteriores (Alverson *et al.*, 1999; Bayer *et al.*, 1999; Cvetkovic *et al.*, 2021;
308 Hernández-Gutiérrez e Magallón, 2019; Judd e Manchester, 1997; Niffeler *et al.*, 2005;
309 Wang *et al.*, 2021). Segundo Judd e Manchester, (1997), a monofilia de Malvaceae é

310 sustentada por uma característica sinapomórfica, a presença de antera monotecal. Das
311 nove subfamílias de Malvaceae existentes, pelo menos duas sequências de plastomas
312 das espécies foram utilizadas no presente estudo, permitindo que todas as subfamílias
313 fossem representadas na árvore filogenética. Estudos anteriores utilizaram número
314 limitado de espécies e subfamílias de Malvaceae, Niffeler *et al.* (2005) amostraram
315 espécies de sete subfamílias e Wang *et al.* (2021) analisaram oito das nove subfamílias
316 de Malvaceae. Portanto, utilizamos amostragem mais abrangente, o que pode
317 proporcionar maior confiabilidade nos resultados.

318 A divisão da família Malvaceae em dois clados principais, Byttneriina e
319 Malvadendrina, apresentada na árvore filogenética (Figura 2), corrobora com estudos
320 anteriores (Alverson *et al.*, 1999; Bayer *et al.*, 1999; Conover *et al.*, 2019; Cvetkovic *et*
321 *al.*, 2021; Le Péchon e Gigord, 2014; Wang *et al.*, 2021). O clado Malvadendrina é o
322 maior grupo, representado por sete das nove subfamílias de Malvaceae, sendo dividido
323 no clado Malvatheca e demais subfamílias. A organização das espécies de Malvaceae
324 em nove grupos distintos, na árvore filogenética (Figura 2), é corroborada pela atual
325 classificação de Malvaceae, na qual divide a família em nove subfamílias (Malvoideae,
326 Bombacoideae, Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tilioideae,
327 Sterculioideae, Grewioideae e Byttnerioideae) (APG IV, 2016; Cole, 2021).

328 Apesar do valor fraco de suporte encontrado em nosso estudo para o clado
329 Malvoideae e Bombacoideae (BS= 66%), a divisão do clado Malvatheca é confirmada
330 em diversos estudos, com base em marcadores plastidiais e nucleares (Alverson *et al.*,
331 1999; Bayer *et al.*, 1999; Baum *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2011; Conover *et al.*, 2019;
332 Cvetkovic *et al.*, 2021; Hernández-Gutiérrez e Magallón *et al.*, 2019; Le Péchon e
333 Gigord, 2014; Niffeler *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2021). O clado Malvatheca é

334 caracterizado pela presença de anteras modificadas, apresentando tecas individuais bi ou
335 poliesporangiada (Niffeler *et al.*, 2005). A presença de anteras monotecais é uma
336 semelhança marcante entre as subfamílias Malvoideae e Bombacoideae (Bayer *et al.*,
337 1999). Outra característica que ocorre em espécies de Malvoideae e Bombacoideae é a
338 ausência de androginóforo (Bayer e Kubtzki, 2003). Essas características, atreladas aos
339 estudos anteriores dão embasamento para o relacionamento estreito entre essas
340 subfamílias, confirmando a posição de Malvoideae e Bombacoideae aqui evidenciada.

341 A subfamília Malvoideae foi representada em nosso estudo, pelo maior número
342 de espécies em relação às demais subfamílias, devido a alta disponibilidade de
343 sequências no banco de dados do *GenBank* e tendo em vista que segundo Bayer e
344 Kubtzki (2003), essa subfamília se destaca como o maior grupo da família Malvaceae,
345 incluindo 110 gêneros e 1.730 espécies com ampla distribuição, principalmente em
346 região pantropical e no Novo mundo. Segundo Carvalho *et al.* (2011), Malvoideae
347 possui características foliares que são restritas a essa subfamília e a diferencia das
348 demais. As características citadas se referem à margem da folha, na qual contém dentes
349 dispostos em maior número e forma diferente, e a superfície foliar, que contém diferente
350 padrão de ramificação das nervuras principais e secundárias.

351 O clado que compreende as espécies da subfamília Malvoideae apresentou alto
352 valor de suporte em nossas análises (BS= 100%) e as relações entre a maioria das
353 espécies do grupo apresentaram suporte de moderado a alto, com exceção para alguns
354 agrupamentos dentro do gênero *Gossypium*, que apresentou valores muito baixos de
355 bootstrap. Em nosso estudo, o gênero *Gossypium* foi representado por 43 sequências.
356 Nos trabalhos de filogenia de Malvaceae realizados anteriormente, foram incluídos
357 número pequeno de espécies do gênero *Gossypium*, geralmente uma ou duas espécies. O

358 clado que compreende as espécies de *Gossypium* obteve alto suporte (BS= 100%) e teve
359 estreito relacionamento com a espécie *Thespesia populnea* (BS= 100%). Outros estudos
360 também demonstraram relação próxima de *Gossypium* e *Thespesia populnea*, Bayer *et*
361 *al.* (1999) e Tate *et al.* (2005), com alto valor de suporte.

362 O clado das espécies de *Gossypium* apresentou algumas relações não resolvidas,
363 com baixo valor de suporte, que pode ser explicado como ineficiência dos marcadores
364 para separar ou organizar espécies muito próximas geneticamente. A espécie *G.*
365 *herbaceum* var. *africanum* mesmo sendo uma variedade de *G. herbaceum*, não formou
366 agrupamento próximo. A espécie *G. morrillii* se relacionou com as espécies de *G.*
367 *hirsutum*. Embora a nomenclatura *G. morrillii* seja aceita (World Flora Online, 2021),
368 ela foi classificada como uma raça de *G. hirsutum* desde estudos de Hutchinson (1951),
369 o que justifica a relação dessas espécies. O clado das espécies *G. darwinii*, *G.*
370 *tomentosum* e *G. mustelinum*, apesar de apresentar baixo valor de suporte (BS= 42%),
371 ficou mais próximo ao clado das espécies de *G. hirsutum*, as quais compõem o grupo
372 das espécies tetraploides de algodão. Porém, as espécies de *G. barbadense*, também
373 pertencentes ao grupo das seis espécies tetraploides de algodão, não constituíram o
374 mesmo clado, formando outro grupo, com fraco suporte (BS= 63%). Em Cheng *et al.*
375 (2020), a espécie de *G. barbadense* apresentou relação mais próxima da espécie *G.*
376 *longicalyx*, do que com as demais espécies tetraploides de algodão, assim como
377 observado em nosso estudo. Resultados diferentes foram obtidos por Khan *et al.* (2000),
378 que evidenciaram a formação de um clado agrupando todas as espécies tetraploides de
379 *Gossypium*, em trabalho de filogenia.

380 Algumas relações entre as espécies de *Gossypium* evidenciadas em nosso estudo
381 e com alto valor de suporte, convergiram com os resultados apresentados por Cheng *et*

382 *al.* (2020). A maioria dos agrupamentos formados convergiram com o tipo de genoma
383 apresentado pelas espécies de algodão. As espécies de *Gossypium* e de *Thespesia*
384 *populnea* formaram grupo irmão (BS= 77%, valor de suporte moderado), com o clado
385 das espécies *Abutilon theophrasti*, *Sida szechuensis*, *Malvastrum coromandelianum*,
386 *Malva parviflora*, *Alcea rosea* e *Althaea officinalis*, que apresentaram alto suporte (BS=
387 100%). Wang *et al.* (2021), encontraram valor de suporte moderado para a relação entre
388 os clados de *Althaea officinalis* e *Gossypium* (BS= 73%).

389 As espécies *Abutilon theophrasti* e *Sida szechuensis* formaram grupo, com alto
390 valor de suporte (BS= 100%). As espécies *Althaea officinalis* e *Alcea rosea* (BS=
391 100%) se agruparam com as espécies de *Malva parviflora* (BS= 92%) e *Malvastrum*
392 *coromandelianum* (BS= 100%). Morfologicamente, os dois grupos diferem,
393 provavelmente, por meio de características florais. Tate *et al.* (2005), evidenciaram em
394 seu trabalho que as espécies que pertenciam ao mesmo clado do gênero *Abutilon* não
395 apresentam brácteas envolvendo as flores (epicalyx), enquanto nas espécies do clado ao
396 qual pertencia os gêneros *Malva* e *Malvastrum*, continham brácteas presentes.

397 Dentro de Malvaceae, todas as subfamílias foram consideradas monofiléticas,
398 assim como constatado por Hernández-Gutiérrez e Magallón *et al.* (2019). Na
399 subfamília Malvoideae, o clado que compreende o gênero *Hibiscus*, com alto valor de
400 suporte (BS= 100%), não foi monofilético, assim como evidenciado em outros estudos
401 (Pfeil *et al.*, 2002; Pfeil e Crisp, 2005). Este clado incluiu as espécies de *Abelmoschus* e
402 *Urena*, que corrobora os estudos de Pfeil e Crisp (2005), que confirmaram a inclusão
403 desses dois gêneros em *Hibiscus*, considerando *Urena* como espécie sinónmia. A
404 espécie *H. rosa sinensis* apresentou maior relação com as espécies de *Abelmoschus*, do
405 que com as demais espécies. As espécies de *Abelmoschus* se apresentaram bem

406 relacionadas às espécies de *Hibiscus* do que com a espécie *Urena procumbens*,
407 diferentemente dos resultados de Wang *et al.* (2021), que evidenciaram relação mais
408 próxima de *Abelmoschus* com *Urena procumbens*.

409 A espécie *H. cannabinus* apresentou estreito relacionamento com
410 *Urena procumbens* (BS= 100%) e este clado apresentou relação próxima ao clado das
411 outras espécies de *Hibiscus* (*H.hamabo*, *H. taiwanensis* e *Talipariti tiliaceum*) (BS=
412 90%). Analisando sequências de cpDNA, Cheng *et al.* (2020) também evidenciaram
413 relações próximas de *T. hamabo* com *H. cannabinus* em relação as espécies de
414 *Abelmoschus*, confirmada em nossa árvore. Em nosso estudo, *T. tiliaceum* foi mais
415 relacionada com *H. taiwanensis* (BS= 79%), do que em relação a *H. hamabo*,
416 contrastando com estudos de Wang *et al.* (2021), em que *H. tiliaceus* foi mais
417 relacionada a *H. hamabo*, do que *H. taiwanensis*, sendo essa relação de baixo suporte.
418 Essas diferenças podem ser explicadas pelo número reduzido de espécies utilizadas nos
419 outros estudos. As relações entre *Hibiscus* e outras espécies da sua tribo é bastante
420 heterogênea, incluindo algumas incertezas em sua classificação. Devido à complexidade
421 dessas relações, Pfeil e Crisp (2005) sugeriram mudanças nessa tribo e a utilização de
422 termos sinonímias entre elas.

423 No clado Bombacoideae, foi evidenciada relação próxima entre a espécie
424 *Bombax ceiba* e *Bombax buonopozense*, com alto suporte (BS= 100%). Essa relação
425 também foi evidenciada nos estudos de Wang *et al.* (2021). Estas duas espécies foram
426 mais próximas de *Pachira macrocarpa* (BS= 61%) e formaram clado com a espécie
427 *Ceiba speciosa* (BS= 99%), relação também evidenciada por Baum *et al.* (2004), com
428 alto valor de suporte (BS= 94%). As espécies de Bombacoideae são caracterizadas pela
429 presença de folhas palmadas (Baum *et al.*, 2004).

430 Pela análise dos resultados, a relação entre o clado Malvatheca com as demais
431 subfamílias (Dombeyoideae, Brownlowioideae, Helicteroideae, Tilioideae e
432 Sterculioideae) foi evidenciada pelo alto valor de suporte (BS= 100%). Outros autores
433 também evidenciaram essa relação, porém, com valor de suporte mais baixos, Alverson
434 *et al.* (1999) (84%), Bayer *et al.* (1999) (67%), Conover *et al.* (2019) (75%), Cvetkovic
435 *et al.* (2021) (72%) e Hernández-Gutiérrez e Magallón *et al.* (2019) (82%). De acordo
436 com Bayer e Kubtziki (2003), as subfamílias do clado Malvatheca e as subfamílias
437 Dombeyoideae e Brownlowioideae não possuem androginóforos. Essa característica
438 morfológica pode justificar a posição próxima desses clados em nossas análises.

439 A subfamília Dombeyoideae formou grupo irmão do clado Malvatheca e essa
440 relação também foi relatada nos estudos de Bayer *et al.* (1999), Carvalho *et al.* (2011) e
441 Wang *et al.* (2021). Segundo Carvalho *et al.* (2011), as subfamílias Dombeyoideae e
442 Malvoideae compartilham características comuns, tais como, folhas simples com
443 nervuras palmadas e margem denteada. A presença de inflorescência reduzida a uma
444 única flor com epicálise também são característica comuns entre essas duas subfamílias
445 (Niffeler *et al.*, 2005). Tais características também podem explicar a proximidade do
446 clado da subfamília Dombeyoideae com o clado Malvatheca, evidenciada em nosso
447 estudo. Diferente desse resultado, os estudos de Conover *et al.* (2019), Hernández-
448 Gutiérrez e Magallón *et al.* (2019) e Niffeler *et al.* (2005), apontam a subfamília
449 Sterculioideae como grupo irmão de Malvatheca, com valor de suporte de fraco e
450 moderado. Outros estudos apontam a subfamília Tilioideae como grupo irmão do clado
451 Malvatheca (Abdullah *et al.*, 2019; Cvetkovic *et al.*, 2021), com suporte moderado.

452 Em nossa análise, a subfamília Dombeyoideae foi representada por duas
453 espécies, *Pterospermum kingtungense* e *Excentrodendron hsienmu*, as quais foram

454 relacionadas com alto valor de suporte (BS= 100%). Essa subfamília possui cerca de 20
455 gêneros e 350 espécies, as quais se encontram distribuídas em Madagascar, Mascarenes,
456 Ásia, África, Malesia e Filipinas (Bayer e Kubtziki, 2003). O agrupamento formado
457 pela subfamília Dombeyoideae com as subfamílias Brownlowioideae, Helicteroideae,
458 Tilioideae e Sterculioideae, apresentou alto valor de suporte (BS= 92%). A relação entre
459 as subfamílias Dombeyoideae, Brownlowioideae e Helicteroideae, pode ser explicada
460 pela presença de estaminódios, que é uma característica compartilhada entre elas
461 (Niffeler *et al.*, 2005). Relação próxima entre as subfamílias Dombeyoideae,
462 Brownlowioideae e Helicteroideae, como alto suporte foi observada nos estudos de
463 Hernández-Gutiérrez e Magallón *et al.* (2019).

464 A subfamília Brownlowioideae foi representada pelas espécies *Brownlowia*
465 *elata* e *Berrya javanica*, que apresentaram relacionamento próximo, com alto valor de
466 suporte (BS= 100%). Esta subfamília possui oito gêneros e cerca de 80 espécies,
467 distribuídas na Ásia e nos paleotrópicos (Bayer e Kubtzki, 2003). Apresentam estames
468 com tecas que são convergentes no topo, mas diferem na base, e, sépalas fundidas
469 formando um cálice do tipo campanulado (Bayer *et al.*, 1999; Niffeler *et al.*, 2005). Dos
470 gêneros analisados, *Brownlowia* caracteriza-se pela presença de cinco estaminódios e
471 *Berrya* pela presença de estames férteis (Niffeler *et al.*, 2005). A relação próxima entre
472 as subfamílias Brownlowioideae e Helicteroideae evidenciada neste estudo, não foi
473 suportada, embora, segundo Bayer e Kubtziki (2003), essas subfamílias apresentem a
474 característica apocarpia, em comum.

475 A subfamília Helicteroideae, em nosso estudo, foi representada por três espécies,
476 das quais *Reevesia botingensis* e *Reevesia thyrsoides* são bem relacionadas, com alto
477 valor de suporte (BS= 100%) em relação à espécie *Durio zibethinus* (BS= 80%).

478 Resultados semelhantes ao encontrado nesse estudo, foi obtido nos estudos de Niffeler e
479 Baum (2000), por meio de análise combinada de sequências de *ndhF* e *ITS*, na qual
480 espécies de Durioneae apresentaram relação próxima com *Reevesia*. Nos estudos de
481 Cvetkovic *et al.* (2021), a relação entre *Durio* e *Reevesia* foi fortemente apoiada com
482 base em análise molecular. A subfamília Helicteroideae possui 12 gêneros e 130
483 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e nos neotrópicos, Austrália, África e Ásia
484 (Niffeler *et al.*, 2005). A presença de androginóforo e pétalas levemente cuculadas,
485 caracterizam essa subfamília (Bayer e Kubtzki, 2003).

486 Estudos apontam relações não resolvidas para a posição das subfamílias
487 Helicteroideae e Tilioideae dentro da família Malvaceae (Hernández-Gutiérrez e
488 Magallón *et al.*, 2019), assim como evidenciado em nosso estudo. O baixo valor de
489 suporte apresentado nas relações entre o clado Helicteroideae e o clado Tilioideae e
490 Sterculioideae (BS= 33%), assim como na relação entre Tilioideae e Sterculioideae
491 (BS= 22%) demonstraram filogenia não resolvida entre esses grupos. Niffeler e Baum
492 (2000) também observaram relação pouco resolvida para Tilioideae, sendo essa
493 subfamília evidenciada próxima a Dombeyoideae, com valor de suporte fraco (BS=
494 67%). Entretanto, análises realizadas por Conover *et al.* (2019), utilizando dados
495 genômicos, evidenciaram que as subfamílias Tilioideae e Sterculioideae formam clados
496 irmãos, com alto suporte (BS= 93%).

497 Em nosso estudo, a subfamília Tilioideae é representada por sete espécies, sendo
498 seis do gênero *Tilia* e uma de *Craigia*. O clado da subfamília apresentou alto valor de
499 suporte (BS= 100%), mas a relação entre as espécies *Tilia paucicostata* e *Tilia*
500 *taishanensis* foi fracamente suportada (BS= 28%). As espécies do gênero *Tilia*
501 formaram um clado com alto suporte (BS= 100%), relacionada com a espécie *Craigia*

502 *yunnanensis* (BS= 100%). Em análises realizada por Alverson *et al.* (1999) e Niffeler e
503 Baum (2000), também identificaram um clado composto pelas espécies de *Craigia* e
504 *Tilia*, com alto valor de suporte. Estudos anteriores discutiam sobre a posição do gênero
505 *Craigia* em várias subfamílias, mas a característica de polén Tilioide, típica da
506 subfamília Tilioideae e compartilhada entre esses dois gêneros (*Tilia* e *Craigia*),
507 juntamente com algumas prováveis características de flores, levou a essa relação de
508 grupo-irmão (Bayer *et al.*, 1999; Judd e Manchester, 1997) Essa subfamília possui dois
509 gêneros e cerca de 40 espécies (Bayer e Kubtzki, 2003), é distribuída no Hemisfério
510 Norte, sendo o gênero *Craigia* distribuído em florestas da China e no Norte do Vietnã
511 e *Tilia* em regiões temperadas da Ásia, Europa e América do Norte (Bayer e Kubtzki,
512 2003; Niffeler *et al.*, 2005).

513 O clado da subfamília Sterculioideae é monofilético, com alto valor de suporte
514 (BS= 99%) e representado por três gêneros (*Firmiana*, *Sterculia* e *Heritiera*). Neste
515 clado, o grupo das espécies do gênero *Heritiera* (BS=100%) apresentou relação mais
516 próxima ao gênero *Sterculia* (BS=100%), com suporte moderado (BS= 71%). Este
517 grupo foi relacionado ao grupo das espécies do gênero *Firmiana* (BS=100%), com alto
518 valor de suporte (BS= 99%). Em análise filogenética da subfamília Sterculioideae,
519 Wilkie *et al.* (2006), também relataram a monofilia do grupo, com alto valor de suporte
520 (100% de *bootstrap*), entretanto, o relacionamento entre as espécies da subfamília foram
521 mal resolvidos. Esta subfamília possui 12 gêneros e cerca de 400 espécies, as quais
522 apresentam flores unissexuais, apétalas, com androginóforos proeminentes e frutos com
523 carpelos livres que produzem muitas sementes (Bayer e Kubtzki, 2003). Em seu estudo,
524 Wilkie *et al.* (2006), reforçam a apocarpia das flores como uma característica
525 sinapomorfica para este o clado.

526 Na presente análise, a subfamília Sterculioideae foi encontrada na posição basal
527 de Malvadendrina, mas essa relação é fracamente suportada. Niffeler e Baum (2000)
528 também evidenciaram Sterculioideae em posição basal de Malvadendrina, mas
529 diferentemente do nosso estudo, relataram alto valor de suporte (BS=99%). Outros
530 estudos evidenciaram a subfamília Dombeyoideae como basal de Malvadendrina, com
531 suporte moderado e relações mal esclarecidas (Niffeler *et al.*, 2005; Le Péchon e
532 Gigord, 2014), enquanto Cvetkovic *et al.* (2021), Hernández-Gutiérrez e Magallón *et al.*
533 (2019) e Wang *et al.* (2021) relataram a subfamília Helicteroideae como basal do clado
534 Malvadendrina, com alto valor de suporte.

535 O clado Byttneriina, formado pelas subfamílias Grewioideae e Byttnerioideae,
536 formou o clado basal da família Malvaceae, com alto valor de suporte (BS=100%). Este
537 clado mostrou monofiletismo e foi fortemente apoiado em outros estudos (Alverson *et*
538 *al.*, 1999; Le Péchon e Gigord, 2014; Cvetkovic *et al.*, 2021). Os autores Abdullah *et al.*
539 (2019), em trabalho de análise de genômica comparativa de espécies do gênero
540 *Hibiscus*, identificaram o gênero *Theobroma* (Byttnerioideae) como basal na árvore
541 filogenética, utilizando dados de seis subfamílias de Malvaceae. Atualmente, nenhuma
542 sinapomorfia conhecida caracteriza o clado Byttneriina (Cvetkovic *et al.*, 2021;
543 Whitlock *et al.*, 2001).

544 O clado Byttnerioideae (BS= 100%), representado em nosso estudo pelas
545 espécies *T. cacao* e *T. grandiflorum*, é monofilético e foi anteriormente caracterizado
546 por possuir pétalas cuculadas, porém, provou-se que esta característica é homeoplásica
547 (Bayer *et al.*, 1999; Cvetkovic *et al.*, 2021; Le Péchon e Gigord, 2014; Whitlock *et al.*,
548 2001). A subfamília Byttnerioideae possui 26 gêneros e 650 espécies, sendo
549 caracterizada por possuir características como flores perfeitas e actinomórficas, estames

550 opostos às pétalas e múltiplos de cinco (Whitlock *et al.*, 2001; Stevens, 2021).

551 O clado Grewioideae é altamente suportado (BS= 100%), podendo se diferenciar
552 do seu grupo irmão Byttnerioideae, através de características androeciais e a presença
553 de numerosos estames (Whitlock *et al.*, 2001). Este clado foi representado por quatro
554 espécies, dentre as quais, *Corchorus capsularis* e *Corchorus olitorius* foram bem
555 relacionadas, com alto valor de suporte (BS= 100%), formando clado com as espécies
556 *Colona floribunda* e *Grewia chungii* (BS= 100%). Esta subfamília possui 25 gêneros e
557 770 espécies, sendo caracterizada por possuir nectários presentes na base das pétalas,
558 estames numerosos, do tipo livre, e, a presença de androginóforos (Bayer *et al.* 1999;
559 Stevens, 2021).

560 O grupo das espécies externas apresentou alto valor de suporte em relação à
561 Malvaceae (BS= 100%), bem como as relações dentro de cada grupo. O *outgroup*
562 formado por espécies da família Thymelaeaceae (*Aquilaria rostrata* e *Phaleria*
563 *macrocarpa*), ocupou posição mais próxima da família Malvaceae, em relação às
564 espécies das ordens Brassicales e Sapindales, assim como mostrado na árvore
565 filogenética dos estudos de Wang *et al.* (2021) e Cvetkovic *et al.* (2021).

566 **Tempo de divergência entre as espécies de Malvaceae**

567 Com base na análise do tempo de divergência, utilizando seis pontos de
568 calibração de estimativas obtidas por estudos anteriores, disponíveis na plataforma Time
569 tree, foi evidenciado que a provável divergência das subfamílias pertencentes à
570 Malvaceae ocorreu em 60 Ma, encontrando-se dentro da estimativa obtida por Wang *et*
571 *al.* (2021), que varia de 50,14 a 75,08 Ma para a diversificação de Malvaceae, mas
572 inferior a idade do nó de Malvaceae (74,69 Ma) relatada em seu estudo (Figura 3). Esse
573 resultado também foi inferior ao tempo de divergência relatado por Hernández-

574 Gutiérrez e Magallón (2019), de 90 Ma e ao relatado por Cvetkovic *et al.* (2021), de
575 110,47 Ma. As espécies de Malvaceae se diferenciaram em dois principais clados, a
576 partir do período Paleoceno (65,50-55,80 Ma). Esse período foi marcado por eventos
577 hipertermais (temperaturas médias anuais aumentadas e mudanças na precipitação) que
578 geraram mudanças nas condições ambientais, na vegetação e diversidade do
579 ecossistema (Hyland *et al.*, 2015).

580 Em Malvadendrina, a diversificação ocorreu em 59,45 Ma, enquanto em
581 Byttneriina foi de 54,07 Ma. Resultados próximos foram obtidos por Wang *et al.*
582 (2021), em que a idade de Malvadendrina foi de 68,45 Ma e para Byttneriina foi de
583 51,86 Ma. Valores muito superiores para idade de Malvadendrina foram obtidos nos
584 estudos de Cvetkovic *et al.* (2021), 92,66 Ma e para Byttneriina foi de 65,67 Ma. Em
585 Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019), Byttneriina se diversificou em 82,31 Ma,
586 aproximadamente 28 Ma de discrepância em relação ao nosso estudo. Para o clado
587 Malvatheca, nosso estudo revelou que a diversificação ocorreu em 52,51 Ma, idade
588 próxima a evidenciada por Wang *et al.* (2021), de 61,41 Ma, sendo as idades estimadas
589 por Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019), de 74,9 Ma e Cvetkovic *et al.* (2021),
590 71,67 Ma, superiores.

591 Os resultados de estimativa de idade de Malvaceae variaram em diversos estudos
592 (Cvetkovic *et al.*, 2021; Hernández-Gutiérrez e Magallón, 2019; Wang *et al.*, 2021).
593 Considerando o tempo de divergência estimado neste estudo para Malvaceae, no geral,
594 as idades são mais jovens em relação aos estudos mencionados. Isto pode ter sido
595 influenciado pela limitação do estudo que não utilizou amostras fora do núcleo
596 Malvaceae, para estimar o tempo de divergência, obtendo idades mais jovens. Este
597 trabalho foi focado em estimar idades dentro de Malvaceae, portanto a análise se limitou

598 na utilização de amostragem das nove subfamílias de Malvaceae, excluindo o grupo
599 externo.

600 As variações de idade encontradas no presente estudo, em relação aos resultados
601 obtidos em outros trabalhos podem estar relacionadas a diferenças na amostragem,
602 número de fósseis e/ou calibrações utilizadas e método empregado. Neste estudo, foram
603 utilizados seis pontos de calibração obtidos na plataforma Time tree, já Wang *et al.*
604 (2021) utilizaram dois fósseis e um ponto de calibração obtido na literatura, Cvetkovic
605 *et al.* (2021) utilizaram oito calibrações fósseis e Hernández-Gutiérrez e Magallón
606 (2019) utilizaram 80 fósseis. Os últimos autores relataram que quanto mais fósseis
607 utilizados, maior é a idade do nó e o tempo entre a origem e diversificação. Os autores
608 também relataram que ocorreram diferenças entre as estimativas de idades utilizando
609 diferentes métodos de análises. Wang *et al.* (2021) concluíram que as diferenças na
610 amostragem das espécies utilizadas nos trabalhos podem justificar a discrepância de
611 idades obtidas nos diversos estudos.

612 No presente estudo, a diversificação das espécies do clado Malvoideae ocorreu
613 em 44,57 Ma (Eoceno), enquanto em Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019) e Areces-
614 Berazain e Ackerman (2016) a idade de diversificação foi relativamente alta, 71,13 Ma
615 e 81,52 Ma, respectivamente. No clado Malvoideae, o tempo de diversificação resultou
616 em cerca de 8 Ma de diferença desde a sua separação de Bombacoideae (52,51-44,57
617 Ma). Nos estudos de Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019), foi evidenciado tempo de
618 divergência curto entre a origem e diversificação de Malvoideae (cerca de 3 Ma). Muito
619 provavelmente, as baixas taxas de diversificação relatadas para a família Malvaceae,
620 pode ser tanto devido à baixa ocorrência de especiação, como a alta taxa de extinção,
621 segundo Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019). Os autores também relataram que o

622 alto número de espécies da família Malvaceae e sua variação de características
623 morfológicas de flores e frutos, diferentes formas de crescimento e ocupação
624 geográfica, podem estar associadas a sua taxa de diversificação.

625 Assim como em Malvoideae, a diversificação do clado das espécies de
626 Bombacoideae ocorreu durante o Eoceno, em 37,99 Ma, enquanto Hernández-Gutiérrez
627 e Magallón (2019) relataram idade do caule bem próxima (42 Ma). O período em que
628 essas espécies divergiram (Eoceno) foi caracterizado por menores oscilações de
629 amplitude, com pico ótimo climático ocorrendo no final do Eoceno (Zachos *et al.*,
630 2001), no qual gerou as condições ideais para a diversificação dessas espécies. Dentro
631 do clado Malvoideae, as espécies de Malveae se diferenciaram em 31,69 Ma e as
632 espécies de Hibisceae, em 30 Ma. Em Areces-Berazain e Ackerman (2016), a
633 diferenciação desses grupos ocorreu em 55,31 e 41,40 Ma, respectivamente. Essa
634 discrepância de idade pode estar relacionada com a diferença de espécies e gêneros
635 amostrados. A diferenciação entre as espécies do gênero *Gossypium* e *Thespesia*
636 ocorreu em 20,15 Ma, sendo relatada mais tardiamente (37,83 Ma) nos estudos de
637 Areces-Berazain e Ackerman (2016), que pode ser atribuída devido à inclusão de mais
638 espécies do gênero *Thespesia* e de outros gêneros que não foram incluídos em nosso
639 estudo.

640 As espécies de *Gossypium* se diversificaram em 10,16 Ma, no período Mioceno
641 (23,03-5,33 Ma). Em Areces-Berazain e Ackerman (2016), a idade de divergência
642 relatada foi próxima, em 16,96 Ma. Nosso estudo corrobora evidências dos autores
643 Wendel e Cronn (2003) no qual relataram que as espécies de algodão diferenciaram-se
644 entre 5 e 10 Ma (Mioceno). É importante ressaltar que desde o período Oligoceno até o
645 Mioceno, ocorreram eventos de aquecimento e resfriamento, gerando aumento e

646 diminuição de temperaturas, nas quais influenciaram as mudanças na formação da terra
647 e separação dos continentes em posições e características que são atualmente
648 reconhecidas (Zachos *et al.*, 2001).

649 No presente estudo, a diversificação entre as espécies do clado Tilioideae (*Tilia*
650 e *Craigia*) ocorreu em 28,22 Ma, no período Oligoceno (33,90-23,03 Ma). Neste
651 período ocorreram diminuições de temperatura, ocasionando resfriamento de algumas
652 regiões, que resultou em regiões de clima temperado (Zachos *et al.*, 2001). Estes fatores
653 podem ter favorecido a diversificação das espécies de Tilioideae, sendo esta
654 predominante de regiões de clima temperado. Embora a família Malvaceae seja
655 predominantemente de regiões de clima tropical e a subfamília Tilioideae de regiões de
656 clima temperado (Bayer e Kubtzki, 2003), esta subfamília está relacionada com as
657 demais subfamílias tropicais. Essa relação foi evidenciada em nosso trabalho e também
658 é consistente com as relações evidenciadas nos trabalhos de Cvetkovic *et al.* (2021),
659 Hernández-Gutiérrez e Magallón (2019) e Wang *et al.* 2021.

660 **Análise de marcadores de DNA *barcode* em *Gossypium***

661 Para análise de marcadores candidatos a DNA *barcode* de espécies do gênero
662 *Gossypium*, as regiões do cpDNA foram selecionadas com base nas divergências dos
663 plastomas verificadas no gráfico mVista (Figura 1) e na literatura. As regiões *matK* e
664 *rbcL* foram indicadas pelo CBOL (2009), como marcadores adequados para DNA
665 *barcode* de plantas terrestres. Pang *et al.* (2012) relataram que a região *trnH-psbA* foi
666 útil para a discriminação de espécies de angiospermas. As regiões *ndhF* e *ycf1* foram
667 relatadas neste trabalho, como sendo as que exibem pontos de divergência entre
668 espécies de Malvaceae. Essas regiões também foram relatadas no trabalho de Wang *et*
669 *al.* (2021), como sendo as que apresentaram maior divergência em regiões codificantes

670 do genoma de espécies de Malvaceae. Wu *et al.* (2018) identificaram 10 sítios de
671 divergência em sequências de genomas de espécies de *Gossypium*, que incluiu as
672 regiões *ndhF* e *ycf*. Nos estudos acima citados, foi destacado o alto potencial dessas
673 regiões como candidatas a DNA *barcode*.

674 A busca por marcadores úteis na discriminação de espécies de *Gossypium* foi
675 anteriormente realizada por Ashfaq *et al.* (2013), utilizando a combinação de regiões
676 nucleares e do cpDNA (*matK*, *rbcL* e ITS2). A combinação testada não foi capaz de
677 diferenciar as espécies dentro de *Gossypium*. Neste estudo, foi investigada a capacidade
678 de discriminação de 11 *loci* de DNA *barcode* em espécies do gênero *Gossypium*. A
679 análise resultou na formação de quatro principais grupos. No geral, as espécies
680 tenderam a se agrupar por tipo de genoma, mas também foi possível observar uma
681 relação quanto à origem geográfica.

682 No primeiro grupo, os valores de suporte observados para algumas espécies de
683 genoma tetraploide AD foram fracos, resultando em relações não resolvidas (Figura 4).
684 A complexidade das relações entre as espécies de genoma AD podem ser resultantes da
685 sua origem e recente radiação. Segundo Wendel (1989), as espécies de Genoma AD
686 resultaram de processos de hibridação e poliploidização. Essas espécies foram mais
687 relacionadas às espécies de genoma diploide A e D. Wu *et al.*, (2018) também
688 evidenciaram relação filogenética muito próxima de espécies do genoma A com AD.
689 Essa relação pode ser resultante da semelhança do genoma materno das espécies
690 tetraploides com o genoma de cloroplasto das espécies diploides de genoma A, *G.*
691 *arboreum* e *G. herbaceum*, relatada por Wendel (1989). A descendência das espécies de
692 genoma AD, a partir de hibridação entre uma espécie de genoma A (*G. herbaceum*) e
693 outra do genoma D (*G. raimondii*), relatada por Chen *et al.* (2017), também pode

694 justificar as relações entre essas espécies.

695 Em relação à origem geográfica, o primeiro, segundo e terceiro grupo foram
696 formados por espécies da África/Ásia (genomas A, B, E e F), México (D) e novo
697 mundo (AD). O quarto grupo foi formado por espécies dos genomas C, G e K, de
698 origem Australiana. Wu *et al.* (2018), também evidenciaram a formação de dois grupos
699 distintos de *Gossypium*, em relação a origem geográfica.

700 **Conclusão**

701 O DNA plastidial tem sido muito útil nos estudos dos genomas das espécies de
702 Malvaceae e de suas relações. Através da comparação entre os genomas de cloroplastos,
703 foi possível verificar alta conservação e similaridade entre os plastomas das espécies de
704 Malvaceae. A análise filogenética envolveu uma amostragem abrangente de plastomas
705 de Malvaceae, incluindo as nove subfamílias, as quais foram recuperadas, seguindo sua
706 atual classificação. Em relação a estudos que utilizaram um ou alguns *loci*, a utilização
707 de quatro *loci* de DNA de cloroplasto neste trabalho, promoveu a recuperação de
708 relações das nove subfamílias dentro de Malvaceae, fornecendo informações sobre as
709 relações filogenéticas da família. Mas a resolução das relações entre alguns clados
710 permanece não resolvida. Para verificar relações mal resolvidas dentro de Malvaceae,
711 seria interessante incluir maior amostragem de gêneros, adicionar outros marcadores,
712 incluindo sequências nucleares, assim como também utilizar outras técnicas
713 moleculares. Outra técnica que também seria muito útil para o estudo da filogenia da
714 família Malvaceae, é o uso de supertrees.

715 A análise do tempo de divergência evidenciou que os principais clados de
716 Malvaceae divergiram entre o período Paleoceno e o período Eoceno. Apesar da
717 utilidade dos 11 *loci* em separar as espécies de *Gossypium* por tipo de genoma e origem

718 geográfica, esses marcadores não foram úteis na discriminação entre espécies. Esses
719 resultados são importantes para os estudos de evolução da família Malvaceae.

720 **Agradecimentos**

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

724 **Referências**

- 725 Alverson, WS; Whitlock, BA; Nyffeler, R; Bayer, C; Baum, DA. 1999. Phylogeny of
726 the core Malvales: evidence from ndhF sequence data. *American Journal of Botany* 86:
727 1474-1486.
- 728 Abdullah; Mehmood, F; Shahzadi, I; Waseem, S; Mirza, B; Ahmed, I; Waheed, MT.
729 2019. Chloroplast genome of *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae): comparative analyses
730 and identification of mutational hotspots. *Genomics* 112: 581-591.
- 731 Angiosperm Phylogeny Group (APG). 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny
732 Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical*
733 *Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.
- 734 Areces-Berazain, F; Ackerman, JD. 2016. Phylogenetics, delimitation and historical
735 biogeography of the pantropical tree genus *Thespesia* (Malvaceae, Gossypieae).
736 *Botanical Journal Linnean Society* 181:171-198.
- 737 Ashfaq, M; Asif, M; Anjum, ZI; Zafar, Y. 2013. Evaluating the capacity of plant DNA
738 *barcodes* to discriminate species of cotton (*Gossypium*: Malvaceae). *Molecular Ecology*
739 *Resource* 13: 573-582.
- 740 Baum, DA; Smith, SD'W; Yen, A; Alverson, WS; Nyffeler, R; Whitlock, BA; Oldham,
741 RL. 2004. Phylogenetic relationships of Malvatheca (Bombacoideae and Malvoideae;

- 742 Malvaceae sensu lato) as inferred from plastid DNA sequences. American Journal of
743 Botany 91: 1863-1871.
- 744 Bayer, CE; Kubitzki, K. 2003. Malvaceae. In: Kubitzki, K, eds. The Families and
745 Genera of Vascular Plants, Malvales, Capparales and Non-Betalain Caryophyllales.
746 Springer, Berlin, Alemanha.
- 747 Bayer, C; Fay, MF; Bruijn, AY; Savolainen, V; Morton, CM; Kubitzki, K; Alverson,
748 WS; Chase, MW. 1999. Support for an expanded family concept of Malvaceae within a
749 recircumscribed order Malvales: a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* DNA
750 sequences. Botanical Journal of the Linnean Society 129: 267-303.
- 751 Bowers, JE; Paterson, AH. 2021. Chromosome number is key to longevity of polyploid
752 lineages. New Phytologist 231: 19-28.
- 753 Carvalho, MR; Herrera, FA; Jaramillo, CA; Wing, SL; Callejas, R. 2011. Paleocene
754 Malvaceae from northern South America and their biogeographical implications.
755 American Journal of Botany 98: 1337-1355.
- 756 Chase, MW; Salamin, N; Wilkinson, M; Dunwell, JM; Kesanakurthi, RP; Haider, N;
757 Savolainen, V. 2016. Correction to 'Land plants and DNA *barcodes*: short-term and
758 long-term goals'. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B 371:
759 20150063.
- 760 Chen, Z; Nie, H; Grover, CE; Wang, Y; Li, P; Wang, M; Pei, H; Zhao, Y; Li, S;
761 Wendel, JF; Hua, J. 2017. Entire nucleotide sequences of *Gossypium raimondii* and *G.*
762 *arboreum* mitochondrial genomes revealed A-genome species as cytoplasmic donor of
763 the allotetraploid species. Journal Plant Biology 19: 484-493.
- 764 Cheng, Y; Zhang, L; QI, J; Zhang, L. 2020. Complete chloroplast genome sequence of
765 *Hibiscus cannabinus* and comparative analysis of the Malvaceae family. Frontiers in

- 766 Genetics 11: 227.
- 767 Christenhusz, JM; Byng, JW. 2016. The number of known plants species in the world
768 and its annual increase. *Phytotaxa* 261: 201-217.
- 769 Cole, TCH; Hilger, HH; Stevens, P. 2019. Angiosperm phylogeny poster (APP) -
770 Flowering plant systematics. Disponível em:
771 [https://www.researchgate.net/publication/330379214_Angiosperm_phylogeny_poster](https://www.researchgate.net/publication/330379214_Angiosperm_phylogeny_poster_APP_-_Flowering_plant_systematics_2019)
772 [APP - Flowering plant systematics 2019](https://www.researchgate.net/publication/330379214_Angiosperm_phylogeny_poster_APP_-_Flowering_plant_systematics_2019) [Acessado em 04 de abril de 2021].
- 773 Cole, T. 2021. Malvaceae Phylogeny Poster (MalvPP). Disponível em:
774 [https://www.researchgate.net/publication/349959291_MALVACEAE_Phylogeny_Post](https://www.researchgate.net/publication/349959291_MALVACEAE_Phylogeny_Poster_MalvPP_2021)
775 [er_MalvPP_2021](https://www.researchgate.net/publication/349959291_MALVACEAE_Phylogeny_Poster_MalvPP_2021) [Acessado em 08 de dezembro de 2021].
- 776 Conover, JL; Karimi, N; Stenz, N; Ané, C; Grover, CE; Skema, C; Tate, JÁ; Wolff, K;
777 Logan, AS; Wendel, JF; Baum, DA. 2019. A Malvaceae mystery: A mallow maelstrom
778 of genome multiplications and maybe misleading methods? *Journal of Integrative Plant*
779 *Biology* 61: 12-31.
- 780 Cvetković, T; Areces-Berazain, F; Hinsinger, DD; Thomas, DC; Wieringa, JJ; Ganesan,
781 SK; Strijk, JS. 2021. Phylogenomics resolves deep subfamilial relationships in
782 Malvaceae s.l. *G3 (Bethesda)* 11: jkab136.
- 783 Guo, YY; Yang, JX; Bai, MZ; Zhang, GQ; Liu, ZJ. 2021. The chloroplast genome
784 evolution of Venus slipper (*Paphiopedilum*): IR expansion, SSC contraction, and highly
785 rearranged SSC regions. *BMC Plant Biology* 21: 248.
- 786 Hebert, PD; Cywinska, A; Ball, SL. 2003. Biological identifications through DNA *barcodes*.
787 *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences B.* 270: 313-321.
- 788 Hernández-Gutiérrez, R; Magallón, S. 2019. The timing of Malvales evolution:
789 incorporating its extensive fossil record to inform about lineage diversification.
790 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 140: 106606.

- 791 Hutchinson, JB. 1951. Intra-specific differentiation in *Gossypium hirsutum*. *Heredity* 5:
792 169-193.
- 793 Hyland, EG; Sheldon, ND; Cotton, JM. Terrestrial evidence for a two-stage mid-
794 Paleocene biotic event. 2015. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 417:
795 371-378.
- 796 Jansen, RK; Ruhlman, TA. 2012. Plastid Genomes of Seed Plants. P. 103-126. In: Bock,
797 R.; Knoop, V, eds. *Genomics of Chloroplasts and Mitochondria. Advances in*
798 *Photosynthesis and Respiration (Including Bioenergy and Related Processes)*, Springer,
799 Dordrecht, Holanda.
- 800 Judd, WS; Manchester, SR. 1997. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as
801 determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical,
802 palynological, and chemical characters. *Brittonia* 49: 384-405.
- 803 Judd, WS.; Campbell, CS.; Kellogg, EA.; Stevens, PF.; Donoghue, MJ, eds. 2009.
804 *Sistemática Vegetal - um Enfoque Filogenético*. Artmed, Porto Alegre, RS, Brasil. (em
805 português).
- 806 Khan, SA; Hussain, D; Askari, E; Stewart, JMcD; Malik, KA; Zafar; Y. 2000.
807 Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. *Theoretical and*
808 *Applied Genetics* 101: 931-938.
- 809 Le Péchon, T; Gigord, LDB. 2014. On the relevance of molecular tools for taxonomic
810 revision in Malvales, Malvaceae s.l., and Dombeyoideae. *Molecular Plant Taxonomy:*
811 *Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* 1115: 337-363.
- 812 Nyffeler, R; Baum, DA. 2000. Phylogenetic relationships of the durians (Bombacaceae-
813 Durioneae or /Malvaceae/Helicteroideae/Durioneae) based on chloroplast and nuclear
814 ribosomal DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution* 224: 55-82.

- 815 Nyffeler, R; Bayer, C; Alverson, W; Yen, A; Whitlock, B; Chase, M; Baum, D. 2005.
816 Phylogenetic analysis of the Malvadendrina clade (Malvaceae s.l.) based on plastid
817 DNA sequences. *Organisms Diversity & Evolution* 5: 109-123.
- 818 Paiva, DCC; Santos, CA; Diniz, JC; Viana, FA; Thomazzi, SM; Falcão, DA. 2013.
819 Anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from
820 *Pseudobombax marginatum* inner bark from caatinga potiguar. *Journal of*
821 *Ethnopharmacology* 149: 416-421.
- 822 Pang, X; Liu, C; Shi, L; Liu, R; Liang, D; Li, H; Cherny, SS; Chen, S. 2012. Utility of
823 the *trnH-psbA* intergenic spacer region and its combinations as plant DNA *barcodes*: a
824 Meta-Analysis. *PLoS One* 7: e48833.
- 825 Pfeil, BE; Brubaker, CL; Craven, LA; Crisp, MD. 2002. Phylogeny of *Hibiscus* and the
826 Tribe Hibisceae (Malvaceae) using chloroplast DNA sequences of *ndhF* and the *rpl16*
827 Intron. *Systematic Botany* 27: 333-350
- 828 Pfeil, B; Crisp, MD. 2005. What to do with *Hibiscus*? A proposed nomenclatural
829 resolution for a large and well known genus of Malvaceae and comments on paraphyly.
830 *Australian Systematic Botany* 18: 49-60.
- 831 Plant working group (CBOL). 2009. A DNA *barcode* for land plants. *Proceedings of*
832 *the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 12794-12797.
- 833 Rao, BG; Jeevitha, K; Ramadevi, D; Battu, H. 2018. Review of literature: phyto
834 pharmacological studies on *Thespesia populnea*. *Journal of Global Trends in*
835 *Pharmaceutical Sciences* 9: 4787-4792.
- 836 Richardson, JE; Whitlock, BA; Meerow, AW; Madriñán, S. 2015. The age of chocolate:
837 a diversification history of *Theobroma* and Malvaceae. *Frontiers in Ecology and*
838 *Evolution*. 3: 1-14.

- 839 Roy, S; Tyagi, A; Shukla, V; Kumar, A; Singh, UM; Chaudhary, LB; Datt, B; Bag, SK;
840 Singh, PK; Nair, NK; Husain, T; Tuli, R. 2010. Universal Plant DNA *Barcode loci* may
841 not work in complex groups: a case study with Indian *Berberis* species. Plos One 5:
842 e13674.
- 843 Soltis, PS; Soltis, DE. 2020. Plant genomes: markers of evolutionary history and drivers
844 of evolutionary change. Plants People Planet 3: 74-82.
- 845 Stevens, PF. 2002. Angiosperm Phylogeny Website. (2021). Disponível em:
846 <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>. [Acessado em 20 de novembro de
847 2021].
- 848 Tate, JÁ; Aguilar, JF; Wagstaff, SJ; Duke, JCL; Slotta, TAB; Simpson, BB. 2005.
849 Phylogenetic relationships within the tribe Malveae (Malvaceae, subfamily Malvoideae)
850 as inferred from *ITS* sequence data. American Journal of Botany 92: 584-602.
- 851 Vassou, SL; Kusuma, G; Madasamy, P. 2015. DNA barcoding for species identification
852 from dried and powdered plant parts: A case study with authentication of the raw drug
853 market samples of *Sida cordifolia*. Gene 559: 86-93.
- 854 Wang, J-H; Moore, MJ; Wang, H; Zhu, Z-X; Wang, H-F. 2021. Plastome evolution and
855 phylogenetic relationships among Malvaceae subfamilies. Gene 765: 145103.
- 856 Wendel, JF. 1989. New world tetraploid cottons contain old world cytoplasm.
857 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86:
858 4132-4136.
- 859 Wendel, JF; Cronn, RC. 2003. Polyploidy and the evolutionary history of cotton.
860 Advances in Agronomy 78: 139-186.
- 861 Whitlock, BA; Bayer, C; Baum, DA. 2001. Phylogenetic relationships and floral
862 evolution of the Byttnerioideae (“Sterculiaceae” or Malvaceae s.l.) based on sequences

- 863 of the chloroplast gene *ndhF*. Systematic Botany 26: 420-437.
- 864 Wilkie, P; Clark, A; Pennington, RT; Cheek, M; Bayer, C; Wilcock, CC. 2006.
- 865 Phylogenetic relationships within the subfamily Sterculioideae
- 866 (Malvaceae/Sterculiaceae-Sterculieae) using the chloroplast gene *ndhF*. Systematic
- 867 Botany 31: 160-170.
- 868 World Flora Online. 2021. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic
- 869 Gardens. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> [Acessado em 05 de
- 870 setembro de 2021].
- 871 Wu, Y; Liu, F; Yang, D-G; Li, W; Zhou, X-J; Pei, X-Y; Liu, Y-G; He, K-L; Zhang, W-
- 872 S; Ren, Z-Y; Zhou, K-H; Ma, X-F; Li, Z-H. 2018. Comparative chloroplast genomics of
- 873 *Gossypium* species: insights into repeat sequence variations and phylogeny. Frontiers in
- 874 Plant Science 9: 1-14.
- 875 Zachos, J; Pagani, M; Sloan, L; Thomas, E; Billups, K. 2001. Trends, rhythms, and
- 876 aberrations in global climate 65 Ma to present. Science 292: 686-93.

FIGURAS

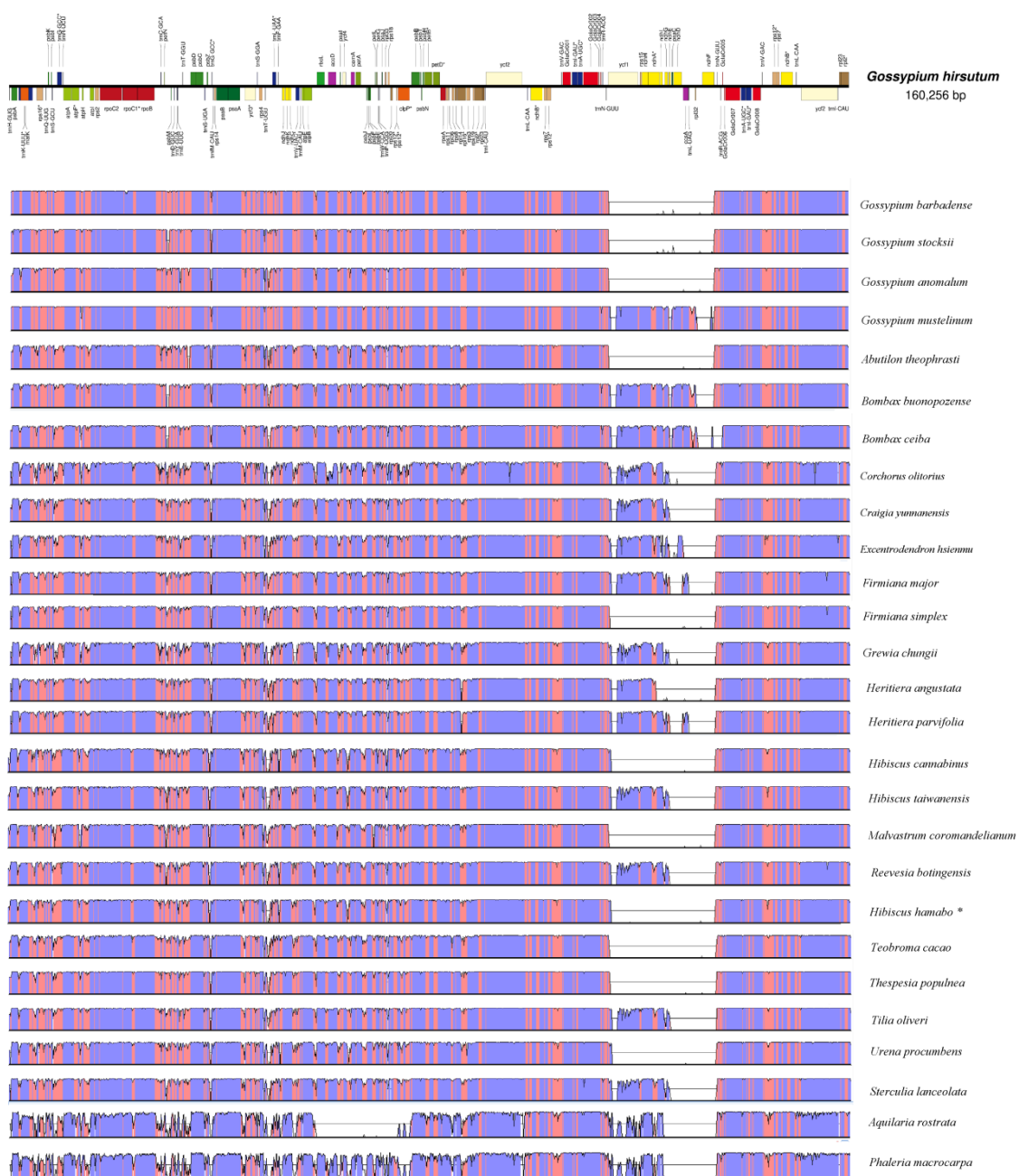


Figura 1. Alinhamento de seqüências completas de plastomas de 27 espécies da ordem Malvales. As espécies *Aquilaria rostrata* e *Phaleria macrocarpa* foram utilizadas como *outgroup*. Cores: as áreas em azul representam as regiões codificantes, áreas na cor rosa indicam regiões não codificantes. Os gráficos da imagem foram obtidos através de análises no VISTA e CHLOROBOX. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinônimas.

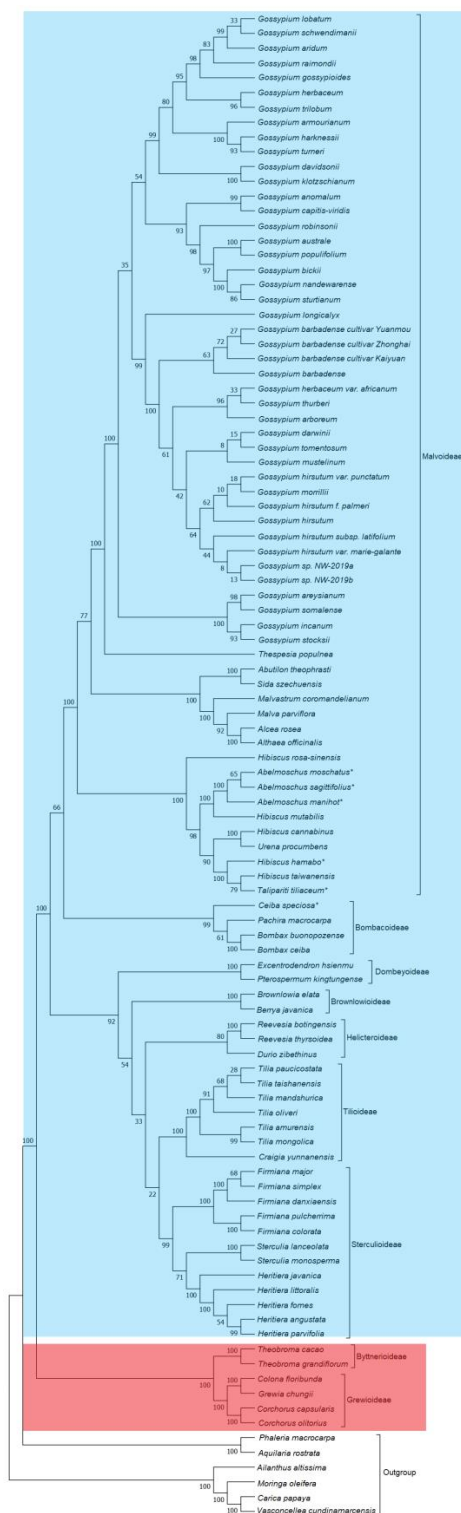


Figura 2. Filogenia da família Malvaceae baseada em quatro genes plastidiais (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*). As análises foram realizadas no MEGA7, através do método de máxima verossimilhança, usando suporte de bootstrap com 1000 replicatas. Os valores de suporte de bootstrap (%) são mostrados na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinônimas.

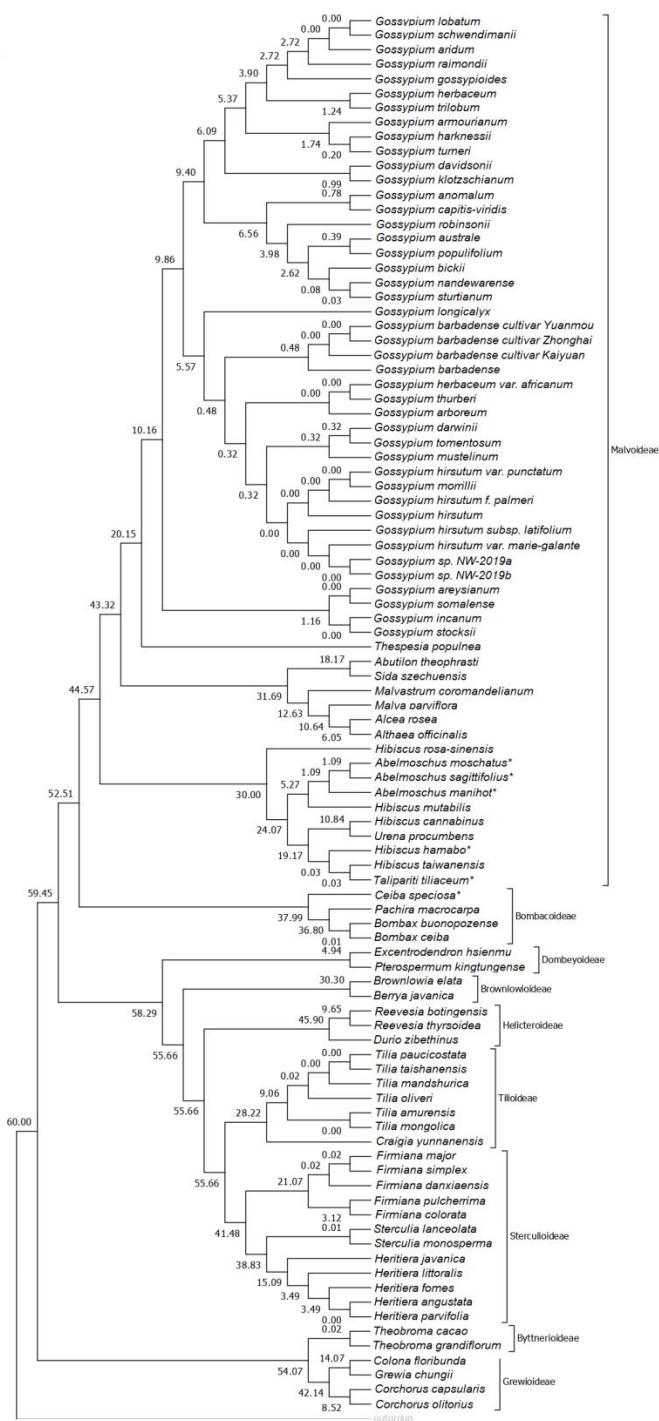


Figura 3. Árvore filogenética baseada em quatro marcadores plastidiais (*matK*, *rbcL*, *atpB* e *ndhF*) e tempo de divergência entre espécies da família Malvaceae utilizando seis pontos de calibração. As análises foram realizadas nos softwares TimeTree e MEGA7, através do método de máxima verossimilhança, usando suporte de bootstrap com 1000 replicatas. O tempo de divergência entre as espécies é mostrado na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinônimas.

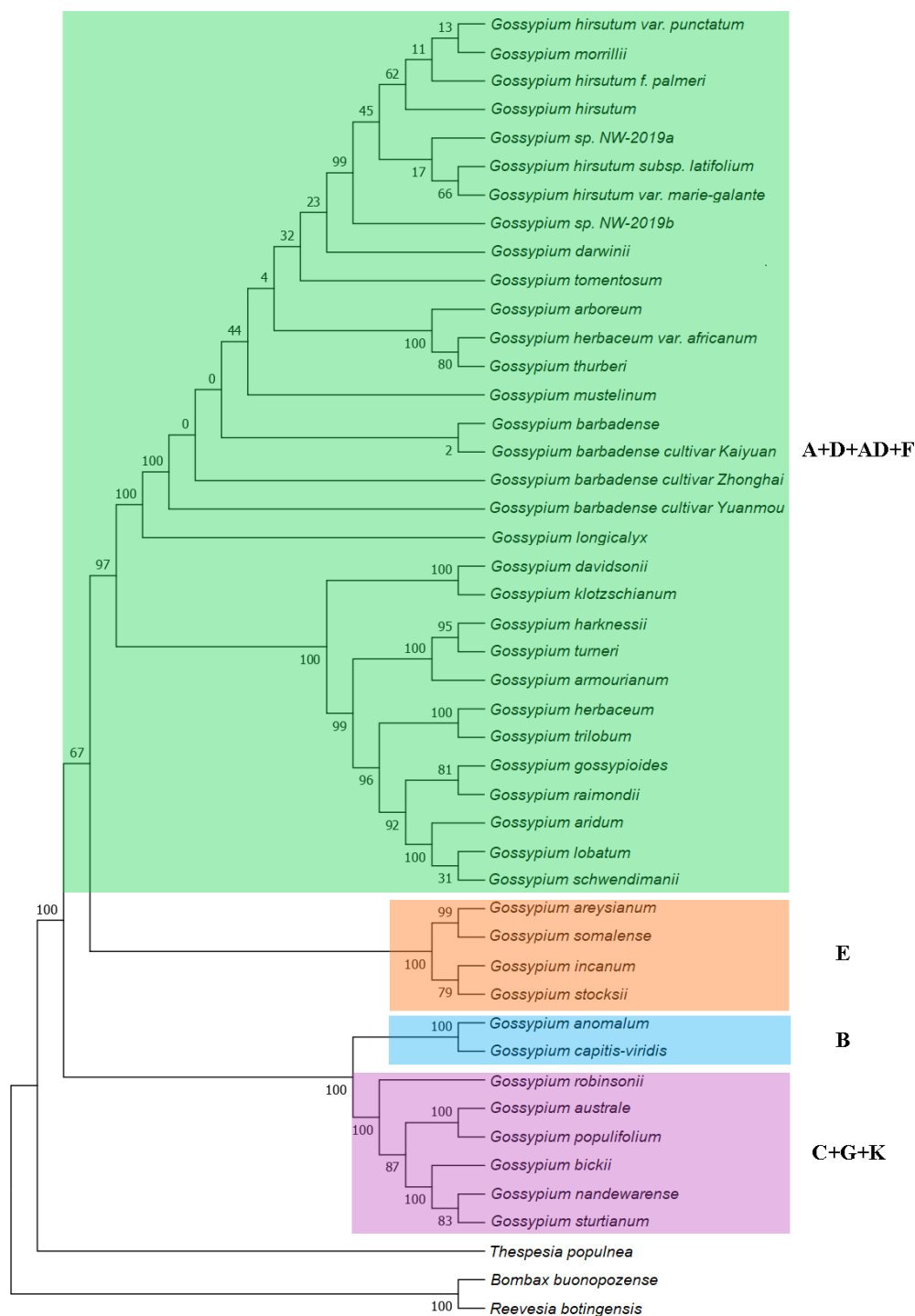


Figura 4. Cladograma de espécies do gênero *Gossypium*, baseada em 11 regiões plastidiais (*matK*, *rbcL*, *accD*, *atpA*, *atpB*, *ndhF*, *petD*, *psbA*, *rpoA*, *rpoC2* e *trnH-psbA*) para seleção de marcadores de DNA *barcode*. Os valores de suporte de bootstrap (%) são mostrados na interseção de cada ramo. As espécies que contém * acrescidas em seus nomes apresentam sinônimas.

TABELAS

Tabela 1. Características das sequências do genoma plastidial de espécies de Malvaceae e *outgroup* utilizadas neste trabalho. Nome científico, número de referência da sequência no NCBI (Ref. Seq.), comprimento da sequência em pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), genes que codificam proteínas (CDS), RNA ribossômico (rRNA), RNA transportador (tRNA) e número de cromossomos das espécies.

Espécies	Ref. Seq.	PB	GC%	CDS	rRNA	tRNA	N° cromossômico
<i>Abutilon theophrasti</i>	MT991007.1	160446	36.9	107	8	33	21
<i>Alcea rosea</i>	MT062860.1	160189	37.0	109	8	33	21
<i>Althaea officinalis</i>	KY085914.1	159987	37.0	110	8	33	21
<i>Abelmoschus manihot*</i>	MT898000.1	163428	36.7	112	8	33	40
<i>Abelmoschus moschatus*</i>	MT890968.1	163430	36.7	112	8	33	36
<i>Abelmoschus sagittifolius*</i>	MT898001.1	163453	36.7	113	8	33	38
<i>Hibiscus cannabinus</i>	NC_045873.1	162903	36.6	110	8	33	18
<i>Hibiscus taiwanensis</i>	MN533968.1	162800	36.8	112	8	33	46
<i>Hibiscus mutabilis</i>	MK820657.1	160879	36.9	110	8	33	46
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	NC_042239.1	160951	37.0	110	8	33	42
<i>Hibiscus hamabo*</i>	KR259988.1	161729	36.9	109	8	33	36
<i>Talipariti tiliaceus*</i>	MT644160.1	161748	36.9	109	8	33	48
<i>Malva parviflora</i>	MK860036.1	158412	37.1	107	8	33	21
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	MK860037.1	159872	37.1	109	8	33	12
<i>Sida szechuensis</i>	NC_051877	159878	36.9	111	8	33	7*
<i>Thespesia populnea</i>	NC_048518.1	160451	37.2	110	8	33	13
<i>Urena procumbens</i>	MN533975.1	163336	36.7	112	8	34	14
<i>Gossypium anomalum</i>	JF317351.1	159507	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium arboreum</i>	HQ325740.1	160230	37.2	110	8	33	13
<i>Gossypium aegyptium</i>	JN019795.1	159572	37.4	110	8	33	13
<i>Gossypium aridianum</i>	KP170502.1	160257	37.3	111	8	33	13
<i>Gossypium armourianum</i>	MG891801.1	160080	37.3	111	8	33	13
<i>Gossypium australe</i>	KP221928	159578	37.2	109	8	33	13
<i>Gossypium barbadense</i>	AP009123	160317	37.2	111	8	33	26
<i>Gossypium barbadense cultivar Kaiyuan</i>	HQ901200.1	160290	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium barbadense cultivar Yuanmou</i>	HQ901198.1	160291	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium barbadense cultivar Zhonghai7</i>	HQ901199.1	160302	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium bickii</i>	JF317352.1	159422	37.2	109	8	33	13
<i>Gossypium capitiviridis</i>	JN019794	159467	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium darwinii</i>	HQ325741.1	160378	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium davidsonii</i>	KP170501.1	160072	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium gossypoides</i>	HQ901195.1	159959	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium harknessii</i>	KP221927.1	160129	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium herbaceum</i>	JF317353.1	160140	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium herbaceum var. africanum</i>	HQ325742.1	160315	37.2	110	8	33	13
<i>Gossypium hirsutum</i>	HQ901196.1	160256	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium hirsutum f. palmeri</i>	MK792867.1	160418	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium hirsutum subsp. latifolium</i>	MG800784.1	160347	37.2	109	8	33	26
<i>Gossypium hirsutum var. marie-galante</i>	MK792865.1	160310	37.2	109	8	33	26
<i>Gossypium hirsutum var. punctatum</i>	MK792868.1	160427	37.2	111	8	33	26
<i>Gossypium incanum</i>	JN019792.1	159205	37.4	110	8	33	13
<i>Gossypium klotzschianum</i>	KP170500.1	160097	37.3	110	8	33	13
<i>Gossypium lobatum</i>	NC_039569	160205	37.3	109	8	31	13
<i>Gossypium longicalyx</i>	JF317354.1	160241	37.2	110	8	33	13
<i>Gossypium morrillii</i>	MK792866.1	160322	37.2	110	8	33	13
<i>Gossypium mustelinum</i>	HQ325743.1	160313	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium nandewarense</i>	NC_039568.1	159677	37.1	109	8	33	13
<i>Gossypium populifolium</i>	KP221924.1	159444	37.2	109	8	33	13
<i>Gossypium raimondii</i>	HQ325744.1	160161	37.3	111	8	33	13
<i>Gossypium robinsonii</i>	JN019791.1	159849	37.2	111	8	33	13
<i>Gossypium schwendimanii</i>	NC_039570.1	160199	37.3	108	8	33	13
<i>Gossypium somalense</i>	JN019793.1	159539	37.4	110	8	33	13
<i>Gossypium sp. NW-2019a</i>	MK792869.1	160456	37.2	110	8	33	13*
<i>Gossypium sp. NW-2019b</i>	MK792870.1	160464	37.2	110	8	33	13*
<i>Gossypium stocksii</i>	JF317355.1	159039	37.4	110	8	33	13
<i>Gossypium sturtianum</i>	JF317356.1	159627	37.1	110	8	33	13
<i>Gossypium thurberi</i>	GU907100	160264	37.2	110	8	33	13

<i>Gossypium tomentosum</i>	HQ325745.1	160433	37.2	110	8	33	26
<i>Gossypium trilobum</i>	KP170503.1	160109	37.3	111	8	33	13
<i>Gossypium turneri</i>	JQ742090.1	159927	37.3	111	8	33	13
<i>Bombax buonopozense</i>	MN533962.1	160876	36.8	115	8	33	36
<i>Bombax ceiba</i>	NC_037494.1	158997	36.8	110	8	31	46
<i>Pachira macrocarpa</i>	MN894601.1	157936	36.9	107	8	31	44
<i>Ceiba speciosa*</i>	MK820674.1	160360	36.8	109	8	33	43
<i>Heritiera angustata</i>	NC_037784.1	168953	36.8	111	8	33	14*
<i>Heritiera fomes</i>	NC_043924.1	168904	36.8	111	8	33	14
<i>Heritiera littoralis</i>	NC_043923	168778	36.8	112	8	33	14
<i>Heritiera parvifolia</i>	NC_038057.1	160193	37.1	109	8	33	14*
<i>Heritiera javanica</i>	MN823696.1	161419	37.0	108	8	33	14*
<i>Firmiana major</i>	NC_037242.1	161302	36.9	108	8	33	20*
<i>Firmiana pulcherrima</i>	MF621982.1	159556	37.1	107	8	32	20*
<i>Firmiana simplex</i>	NC_041438.1	161268	36.9	108	8	33	20
<i>Firmiana danxiaensis</i>	MN720649.1	161205	36.9	108	8	33	20*
<i>Firmiana colorata</i>	MN533965.1	162135	37.1	109	8	33	20
<i>Sterculia monosperma</i>	MN533974.1	161098	36.9	110	8	33	20*
<i>Sterculia lanceolata</i>	MN533973.1	161118	37.0	108	8	33	20*
<i>Reevesia bottingensis</i>	MN533972.1	160128	37.0	108	8	33	38*
<i>Reevesia thyrsoidea</i>	NC_041441.1	161786	36.8	107	8	33	38*
<i>Durio zibethinus</i>	MG138151.1	163974	35.8	112	8	33	14
<i>Grewia chungii</i>	MN533967.1	159861	37.2	107	8	33	9
<i>Colona floribunda</i>	MN533964.1	161089	37.3	108	8	34	-
<i>Corchorus olitorius</i>	NC_044468.1	161766	36.8	116	8	34	7
<i>Corchorus capsularis</i>	NC_044467.1	161088	36.9	114	8	32	7
<i>Theobroma cacao</i>	KY085907.1	160619	36.9	109	8	33	10
<i>Theobroma grandiflorum</i>	MN562270.1	160606	36.9	108	8	33	20
<i>Tilia amurensis</i>	KT894772.1	162715	36.5	110	8	33	82
<i>Tilia mandshurica</i>	KT894773.1	162796	36.5	111	8	33	41
<i>Tilia oliveri</i>	KT894774.1	162734	36.5	110	8	33	41
<i>Tilia paucicostata</i>	KT894775.1	162653	36.5	110	8	33	82
<i>Tilia taishanensis</i>	MT591529.1	162803	36.5	110	8	33	41*
<i>Tilia mongolica</i>	MW386998.1	162804	36.5	111	8	33	82
<i>Craigia yunnanensis</i>	NC_045284.1	163166	36.4	109	8	33	-
<i>Excentrodendron hsienmu</i>	MN533963.1	161276	36.7	112	8	33	-
<i>Pterospermum kingtungense</i>	MK962315.1	161915	36.5	112	8	33	19*
<i>Aquilaria rostrata</i>	NC_052858.1	174693	36.7	124	8	34	9
<i>Phaleria macrocarpa</i>	NC_052861.1	174585	36.7	124	8	34	9*
<i>Carica papaya</i>	EU431223.1	160100	36.9	110	8	33	9
<i>Vasconcellea cundinamarcensis</i>	NC_049867.1	158712	37.0	109	8	33	18
<i>Moringa oleifera</i>	NC_041432.1	160600	36.8	112	8	33	14
<i>Ailanthus altissima</i>	NC_037696.1	160815	37.6	111	8	33	40*

Tabela 2. Valores dos sítios de parcimônia informativa (PI) e sítios variáveis (V) para espécies de Malvaceae e outgroup, Malvaceae sem *outgroup*, *Gossypium* e *outgroup* e *Gossypium* sem *outgroup*. Os valores foram obtidos a partir do alinhamento de sequências de regiões do cpDNA no software MEGA7.

GRUPOS	PI	V
Malvaceae+out	1478/7142	2177/7142
Malvaceae	1011/7142	1470/7142
<i>Gossypium</i> +out	561/17056	1075/17056
<i>Gossypium</i>	314/17056	515/17056

ANEXO I

Normas da revista Scientia Agricola (Qualis A1)

INSTRUÇÕES GERAIS – REVISTA SCIENTIA AGRICOLA

SUBMISSÃO DE MANUSCRITO

- Inicie o processo de submissão revisando as Instruções para Autores para garantir que o artigo está de acordo com os padrões da Scientia Agricola. Para submeter as revisões os autores devem verificar as instruções específicas. Como essas páginas são atualizadas periodicamente, é altamente recomendável que você as leia, mesmo que já tenha feito isso anteriormente.
- Por favor, leia a lista de verificação cuidadosamente antes de enviar seu manuscrito.
- Os autores devem submeter os manuscritos através do sistema online <http://www.scielo.br/sa>, clicando em "submissão online".
- É necessário um arquivo de envio de manuscrito em Microsoft Word (ou formato compatível). Evite o uso de recursos de processamento de texto, como marcadores e numeração automatizados, formatação de cabeçalhos e subtítulos, links internos ou estilos.
- Ao submeter um manuscrito, os autores devem recomendar cinco revisores qualificados, especialistas na área temática, e fornecer seus emails e afiliação. Pelo menos dois desses revisores devem ser de outra nacionalidade que não o autor para correspondência. Revisores da instituição do autor correspondente devem ser evitados.
- A publicação de resumo curto ou extenso em evento científico não é considerada publicação prévia da pesquisa. No entanto, não serão aceitos resultados de

pesquisas publicadas anteriormente na forma de manuscrito completo em eventos científicos.

- Não há taxas de submissão ou avaliação do manuscrito. Os autores deverão pagar uma taxa de publicação logo após a aceitação do manuscrito.

CARTA DE CAPA (deve ser escrita em inglês)

- O conteúdo da carta de apresentação deve apresentar a garantia de que o manuscrito é original, não foi publicado antes e não está sendo considerado para publicação em outro lugar em sua forma final, nem impressa nem em formato eletrônico. O autor para correspondência deve assinar a carta de apresentação em nome de todos os autores. Envie sua carta de apresentação em um arquivo separado na área designada na página de envio.
- Os autores devem inserir cinco destaques (máximo de 100 caracteres incluindo espaços para cada destaque) explicando a importância de seu trabalho e como e porque suas principais descobertas se relacionam com o escopo da revista.

ESTILO DE MANUSCRITO

- Defina todas as abreviaturas na primeira menção no resumo e no texto, e novamente nas tabelas e figuras. Uma vez que uma abreviatura é usada, ela deve ser usada em todo o artigo, exceto no início de uma frase.
- O nome latino ou nomenclatura binomial (ou trinomial) e autoridade devem ser usados na primeira menção de todas as plantas, insetos, patógenos e animais.
- Tanto o ingrediente ativo quanto o nome químico dos pesticidas devem ser fornecidos na primeira menção.

- Identifique os solos usando a taxonomia de solos do USDA (<http://soils.usda.gov/technical/classification/osd/index.html>) até o segundo nível (subordem) ou, se possível, até o quarto nível (subgrupo). A classificação da FAO pode ser usada até o segundo nível. Não são permitidas traduções gratuitas de classificações ou nomes de solo.
- O Sistema Internacional de Unidades deve ser usado em todos os manuscritos.
- Verifique cuidadosamente todos os caracteres e figuras gregas.
- Soletre os números de um a nove, exceto quando usado com unidades. Para quantidades decimais <1, coloque um zero antes da vírgula decimal.
- Para o marcador decimal, use um ponto final.
- As porcentagens devem ser expressas como números inteiros, por exemplo: 35% ao invés de 35,4%; 48% em vez de 47,5%; 79% em vez de 78,9%.
- Denote e inter-relacione unidades como potências positivas ou negativas, não com barras, por exemplo: kg ha^{-1} , não kg / ha .
- Deixe um único espaço entre as unidades, por exemplo: g L^{-1} , não gL^{-1} ou g L^{-1} .
- Use o sistema de horário de 24 horas, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00; 18h30.
- As datas devem ser escritas, primeiro com o dia, depois o mês e o último ano: 18 de março de 2000; 01 de fevereiro de 1987.
- Abrevie os meses com mais de quatro letras, por exemplo: janeiro, julho, setembro, etc.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

- O texto e as ilustrações destinados à publicação na *Scientia Agricola* devem ser escritos em inglês conciso e gramaticalmente correto, aplicando-se as regras ortográficas e gramaticais dos EUA.
- Os manuscritos devem ser organizados como um arquivo contendo o documento principal. Para o documento principal deve ser utilizado o MS Word para Windows ou software compatível, com fonte Times New Roman 12, margens de 3,0 cm e espaçamento duplo. Organize o documento principal na seguinte ordem: Capa, Resumo (máximo de 250 palavras), Palavras-chave (máximo de cinco), Introdução (30 linhas), Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos (opcional), Referências, Figuras e Tabelas com suas respectivas legendas.
- Uma seção de Conclusão é opcional e, quando usada, deve vir após a seção de Discussão. A seção Resultados e Discussão podem ser combinadas, e a Conclusão pode ser incorporada na Discussão.
- Manter o manuscrito com no máximo 30 páginas (papel A4), com numeração em linhas contínuas e numeração consecutiva de páginas, incluindo ilustrações e tabelas.
- Tabelas e Figuras devem ser incluídas no final do documento principal.

CAPA

- Cada manuscrito deve ter uma folha de rosto com o título (máximo de 15 palavras), nomes completos dos autores e afiliações institucionais em inglês.

- Um título corrente de 40 caracteres ou menos (além do título completo do artigo) também deve ser fornecido.
- Os autores devem selecionar uma das seguintes categorias: Engenharia Agrícola; Microbiologia Agrícola; Agrometeorologia; Ciência Animal e Pastagens; Biometria, modelagem e estatística; Ciência da colheita; Ecologia; Entomologia; Ciência e Tecnologia de Alimentos; Ciência Florestal; Genética e Melhoramento de Plantas; Patologia das plantas; Fisiologia e Bioquímica Vegetal; Solos e Nutrição de Plantas; e Zoologia.
- O autor para correspondência deve ser identificado com um asterisco e deve ser fornecido um e-mail institucional.
- Forneça informações tão detalhadas quanto possível sobre a atual afiliação institucional do autor.
- O autor correspondente assume total responsabilidade pelo manuscrito, incluindo conformidade com as políticas da revista, e será o contato principal com o escritório da revista. O autor responsável pela apresentação pode assumir esta posição se indicado na carta de apresentação.

Envios de imagens de capa:

- A capa da *Scientia Agricola* pode apresentar uma imagem representativa de um artigo publicado nessa edição. Os autores são convidados a enviar imagens de capa cientificamente interessantes e visualmente atraentes. As imagens devem ser de alta resolução (300 dpi) e medir 17 x 17 cm. As imagens da capa podem ser fotografias de organismos, habitats, montagens de fotografias, diagramas, mapas ou dados. As ilustrações não precisam ser reimpressas no artigo, mas

devem ser representativas do trabalho. As imagens devem ser originais, e os autores concedem *Scientia Agricola* a licença exclusiva para publicar. Carregue a imagem como um arquivo suplementar adicional junto com um arquivo de texto separado que inclui uma breve descrição de um parágrafo da imagem descrevendo sua relevância para o manuscrito publicado. Se um autor não detém os direitos autorais de uma imagem enviada, ele é responsável por obter a permissão necessária para usá-la.

TABELAS E FIGURAS

Tabelas:

- Numere tabelas sequencialmente usando algarismos arábicos; as tabelas devem ser criadas com a função "Tabelas" do MS Word ou do MS Excel (manuscritos que apresentem tabelas coladas como figuras serão devolvidos aos autores).
- O título da tabela deve aparecer imediatamente acima do corpo da tabela.
- Numere figuras e gráficos sequencialmente usando algarismos arábicos.

Figuras / gráficos:

- Os gráficos devem ser criados em MS Excel.
- Forneça as fotografias como arquivos de formato de imagem marcados [TIFF], 300 DPI.
- Numere as figuras consecutivamente na ordem em que aparecem no texto.
- As figuras devem fornecer informações suficientes para que o leitor possa entendê-las sem consultar o texto.

- Para figuras que contêm mais de um painel, designe os painéis com letras maiúsculas (sem parênteses e sem pontos após as letras) no canto superior esquerdo de cada painel, se possível.
- A redação das figuras deve corresponder ao restante do manuscrito no que diz respeito à capitalização, itálico e uso de símbolos.

INFORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- Manuscritos que avaliam a bioatividade de produtos químicos e / ou biológicos, incluindo reguladores de crescimento de insetos, aranhas, fungos, bactérias, nematóides e ervas daninha, não serão considerados para publicação na *Scientia Agricola*.
- Manuscritos que avaliam melhorias em cultura de tecidos ou protocolos baseados em testes de aditivos, explantes ou condições de crescimento, ou que não demonstrem uma melhoria substancial que não poderia ser deduzida da literatura existente, não serão mais considerados para publicação *na Scientia Agricola*.
- Manuscritos baseados em um único experimento de campo não serão considerados adequados para publicação na *Scientia Agricola*, exceto quando os autores puderem comprovar a alta relevância e novidade do estudo. Mesmo manuscritos com mais de um experimento de campo estarão sujeitos à rejeição imediata se os dados coletados não tiverem variabilidade suficiente para alcançar resultados conclusivos.
- Manuscritos que relatam as primeiras ocorrências ou são simples descrições de pragas, patógenos e doenças geralmente não serão considerados para publicação

na Scientia Agricola. Excepcionalmente, esses manuscritos podem ser considerados no formato NOTA quando: 1) organismos relatados são de alta relevância para a agricultura; 2) os dados são provenientes de uma ampla pesquisa; e 3) organismos / problemas são caracterizados extensivamente por meio de vários métodos e aspectos sob investigação.

- Os manuscritos que envolvem experimentação com animais vivos (incluindo seres humanos) devem fornecer evidências de que foram realizados de acordo com as normas éticas locais. Espera-se que os autores sigam as melhores práticas éticas estabelecidas. Essas evidências devem ser oficialmente declaradas na seção “Materiais e Métodos”, descrevendo que o estudo foi avaliado e aprovado por um comitê de ética apropriado (incluindo o número do processo).
- Os manuscritos devem seguir os critérios estabelecidos pelos Códigos Internacionais de cada área.
- As opiniões e conceitos expressos nos artigos são de responsabilidade exclusiva dos autores.
- Todos os manuscritos submetidos serão submetidos à política da revista de triagem de plágio e autoplágio.

REFERÊNCIAS

- A Scientia Agricola não permite que os autores citem resumos de congressos ou workshops, artigos técnicos, dissertações e teses. As referências em português ou em qualquer outro idioma que não o inglês devem ser limitadas àquelas essencialmente importantes para o estudo. Serão permitidas até quatro referências escritas em idiomas diferentes do inglês, sem justificativa. Mais do

que isso só será permitido se os autores explicarem os motivos para mantê-los no texto. Se permitido pelo Editor-Chefe, essas referências extras devem ser citadas em inglês com o texto no idioma original fornecido ao final da referência, no seguinte formato: (em português, com resumo em inglês).

- *Scientia Agricola* não recomenda que os autores citem análises estatísticas ou pacotes de software como referências. Essas ferramentas devem ser mencionadas no texto (Materiais e Métodos), incluindo o procedimento específico e o nome do software com sua versão e / ou ano, por exemplo, “... os procedimentos estatísticos foram conduzidos usando PROC NLIN no SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2)”.
- As referências e citações em artigos da *Scientia Agricola* devem ser formatadas no estilo 'autor, ano' ou 'nome (ano)'. Lembre-se de garantir que as citações do texto correspondam à lista de referências. Exemplos: **1.** Autor único: Reichardt (2000) ou (Reichardt, 2000). **2.** Dois autores: Fiorio e Demattê (2009) ou (Fiorio e Demattê, 2009). **3.** Três ou mais autores: Rosso et al. (2009) ou (Rosso et al., 2009).
- Organize as referências em ordem alfabética e cronológica entre colchetes e use ponto e vírgula (;) para separar citações múltiplas entre colchetes, por exemplo: (Boleli, 2003; Boerjan, 2006; Muraroli e Mendes, 2003).
- Ordene as citações múltiplas 'mesmo autor-mesma data' com o auxílio de letras minúsculas, por exemplo: (Cyrino, 2004a, b).

- Use o estilo "autor-ano" para formatar a lista de referências e: (i) não abrevie outras palavras além do nome e do meio dos autores; (ii) usar todas as letras maiúsculas apenas para siglas, ou seja, quando o autor for uma organização; (iii) nomear todos os autores e colocar em maiúscula o sobrenome e as iniciais dos autores, que devem ser separados por ponto (.); (iv) separar os autores por ponto e vírgula; (v) não use e comercial (&) nas citações nem na lista de referências; (vi) não use caracteres em negrito para destacar qualquer parte da referência; (vii) capitalizar livros e títulos de periódicos; (viii) não use vírgula (,) para separar o título e o volume de um periódico; (ix) separar o volume do periódico dos números das páginas com dois pontos (:); (x) usar numeração de página inteira; (xi) separe os números das páginas com um travessão (-); (xii) separar grupos de páginas por vírgula se o artigo foi publicado em páginas descontínuas; (xiii) indicar o número de uma determinada edição de um livro ou manual, por exemplo, "2ed"; (xiv) para livros e manuais, indicar a editora ou redação antes da localidade principal da editora ou redação; (xv) separar editores ou escritórios editoriais da localidade com uma vírgula; e (xvi) em tais casos, nomear cidade, estado e / ou província e país.

Revistas científicas

- Guillard, RRL; Wangersky, P. 1958. A produção de carboidratos extracelulares por alguns flagelados marinhos. *Limnology and Oceanography* 3: 449-454.

Livros

- Livros com autores
Pais, I.; Jones Jr., JR 1998. The Handbook of Trace Elements. St. Lucie Press, Boca Raton, FL, EUA.
- Livros com editores / organizadores
Day, W.; Atkin, RK, eds. 1985. Wheat Growth and Modeling. Plenum Press, New York, NY, USA.
- Livros (e manuais) com uma organização como autor ou editor / organizador
Association of Official Analytical Chemists - International [AOAC]. 2005. Official Methods of Analysis. 18ed. AOAC, Gaithersburg, MD, EUA.

Capítulos de livros

- Sharpley, AN; Rekolainen, S. 1997. Fósforo na agricultura e suas implicações ambientais. p. 1-53. In: Tunney, H.; Carton, OT; Brookes, PC; Johnston, AE, eds. Perda de fósforo do solo para a água. CAB International, New York, NY, EUA.

Fontes de mídia eletrônica

- Os elementos necessários para listar citações de sites são:
Autoria, autor ou fonte. Ano. Título do documento ou página da Web (ou seja, o cabeçalho principal da página). [Médio] (data de atualização). Disponível em:
Uniform Resource Locator completo (ou seja, URL / endereço) [Acessado em 14 de setembro de 1992].
- Os elementos necessários para listar as publicações disponíveis online são:
Autoria, autor ou fonte. Ano. Título do documento ou página da web. [Médio]

Produtor / Editor. Disponível em: full Uniform Resource Locator [Acessado em 14 de setembro de 1992].

Listagem de referências não escritas em inglês

- Forneça o título em inglês e indique o idioma original de publicação do periódico ao final da citação, conforme: Baretta, D.; Santos, JCP; Figueiredo, SR; Klauberg-Filho, O. 2005. Efeitos da queima de pastagens nativas e da monocultura de Pinus nas mudanças nos atributos biológicos do solo no Planalto Sul de Santa Catarina - Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 715-724 (em português, com resumo em inglês). Mingoti, AS 2005. *Análise de dados usando métodos estatísticos multivariados: uma abordagem aplicada.* = *Análise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada: uma abordagem aplicada.* Editora UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil (em português).