



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA
E BIOLOGIA MOLECULAR

LAURA MARIA RODRIGUES DA PAIXÃO

**GENOMA CLOROPLASTIDIAL DE *Calotropis procera*: ESTRUTURA E
RELAÇÕES FILOGENÉTICAS EM APOCYNACEAE**

Recife

2024

LAURA MARIA RODRIGUES DA PAIXÃO

**GENOMA CLOROPLASTIDIAL DE *Calotropis procera*: ESTRUTURA E
RELAÇÕES FILOGENÉTICAS EM APOCYNACEAE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientador(a): Ana Maria Benko Iseppon

Coorientador(a): Rodrigo César Gonçalves Oliveira

Flávia Figueira Aburjaile

Recife
2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Paixão, Laura Maria Rodrigues da.

Genoma cloroplastidial de *Calotropis procera*: estrutura e relações filogenéticas em Apocynaceae / Laura Maria Rodrigues da Paixão. - Recife, 2024.

105f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2024.

Orientação: Ana Maria Benko Iseppon.

Coorientação: Rodrigo César Gonçalves Oliveira.

Coorientação: Flávia Figueira Aburjaile.

1. Plastoma; 2. Exótica invasora; 3. SSRs; 4. Filogenia; 5. Genoma comparativo; 6. *Calotropis*. I. Iseppon, Ana Maria Benko. II. Oliveira, Rodrigo César Gonçalves. III. Aburjaile, Flávia Figueira. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

LAURA MARIA RODRIGUES DA PAIXÃO

**GENOMA CLOROPLASTIDIAL DE *Calotropis procera*: ESTRUTURA E
RELAÇÕES FILOGENÉTICAS EM APOCYNACEAE**

Área de Concentração: Biologia Molecular e Bioinformática

Aprovado em ____/____/____

Banca Examinadora

Dr^a Ana Maria Benko Iseppon
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Marco Jacinto Katzenberger Baptista Novo
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Cicero Carlos de Souza Almeida
Universidade Federal de Alagoas

Dr^a Mariana Pires de Campos Telles
Universidade Federal de Goiás

Recife
2024

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Pernambuco** pela estrutura física. À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo suporte financeiro e pela concessão da bolsa. Ao Programa de **Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGGBM)**, especialmente a Coordenadora Prof^a Dr^a **Ana Christina Brasileiro Vidal** pelo suporte.

À minha orientadora Prof^a Dr^a **Ana Maria Benko Iseppon**, pela confiança e por estar sempre disponível para esclarecer todas as dúvidas. Sou extremamente grata pelo apoio recebido e pela valiosa oportunidade de integrar o grupo de trabalho.

À minha equipe de Coorientação, ao Prof^o Dr^o **Rodrigo César Gonçalves Oliveira**, por todo apoio, puxões de orelha, compreensão, troca e aprendizagem em laboratório e em campo. Obrigada pela dedicação, amizade e por me ensinar tanto. À Prof^a Dr^a **Flávia Figueira Aburjaile** por todo suporte e ajuda com a metodologia.

Dedico à minha família, meus pais **Eliane Rodrigues** e **Francisco Paixão**, por terem investido na minha educação e mesmo não entendendo tanto, confiarem. À minha irmã **Maria Paixão** pelo amor, cuidado e por sempre me incentivar, acreditando no meu potencial.

Ao meu amor **Camila Marinho** por ter sido um porto seguro nessa reta final. Agradeço pela compreensão nos momentos de ausência, companheirismo, incentivo e cuidado, sem você teria sido mais difícil.

À minha tia **Luciana Paixão** (*in memoriam*), por desde sempre me incentivar, confiar e alegrar-se com minhas conquistas até o último momento. Ao pequeno **Pedro Henrique** pelo amor e alegria que me transmite.

A todos os amigos que fiz ao longo da construção acadêmica, em especial a **Pollyana Moura**, **Lilian Arantes** e **Shaieny Santos** pelo suporte nos momentos difíceis, pelas risadas que tornaram a rotina mais leve, por tantas histórias e partilha.

A todos os membros do **Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal (LGBV)**, pela ajuda e suporte na realização da metodologia. Além dos inúmeros momentos de descontração.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos

RESUMO

Espécies exóticas invasoras têm a capacidade de estabelecer e expandir sua distribuição em novos habitats. Um exemplo notável é *Calotropis procera* (Aiton) W. T, uma espécie xerófita e invasora na América do Sul, com ocorrência predominante nos ambientes de Restinga e no domínio da Caatinga. Apesar de sua tolerância aos fatores abióticos, como ambientes salinos, de baixa disponibilidade hídrica e nutricional, a espécie carece de informações que ajudem a ilustrar os mecanismos que contribuem para sua colonização em regiões áridas e semiáridas. Neste sentido, o presente estudo objetivou caracterizar e estruturar o genoma cloroplastidial (cpDNA) de *C. procera*, através da anotação, comparação da estrutura e da reconstrução filogenética para a família Apocynaceae. Dessa forma, as informações genômicas foram montadas com NOVOPlasty e anotadas via GeSeq. As regiões altamente variáveis para o gênero *Calotropis* foram identificadas pelo DnaSP. Para as análises de expansão/contração, o cpDNA foi comparado com plastomas da família Apocynaceae, identificando variações críticas nas junções LSC/IRb/SSC/IRa no IRscope. Por fim, a filogenia foi reconstruída pelo método de máxima verossimilhança (ML) no RAxML, com base em 117 plastomas completos. Com a metodologia descrevemos pela primeira vez o plastoma da espécie, os dados revelaram um genoma plastidial de estrutura circular e conteúdo de GC de 38,43%. O plastoma codifica 133 genes, com 94 loci de SSRs identificados e seis regiões altamente variáveis para o gênero (*trnK-UUU*, *matK*, *rps16*, *infA*, *ycf2* e *psbB*). A análise entre os limites IR indicou que o genoma de *C. procera* apresenta variações entre as junções JSB e JSA, concentradas nos genes *ycf1*, tRNAs e rRNAs, que sugerem eventos evolutivos significativos, incluindo adaptações específicas a ambientes ou pressões seletivas. A reconstrução filogenética de Apocynaceae atribui forte suporte à monofilia do gênero *Calotropis* (*C. procera* e *C. gigantea*) e contribui para esclarecer incertezas taxonômicas em *Hoya* e na subfamília Periplocoideae. Por fim, nossos resultados contribuem para ilustrar os mecanismos que levaram *C. procera* a suportar ambientes extremos e ampliam os recursos genômicos disponíveis em Apocynaceae.

Palavras-chave: Plastoma; Exótica invasora; SSRs; Filogenia; Genoma comparativo; *Calotropis*

ABSTRACT

Invasive alien species have the ability to establish and expand their distribution in new habitats. A notable example is *Calotropis procera* (Aiton) W. T., a xerophytic and invasive species in South America, predominantly occurring in Restinga environments and Caatinga environments. Despite its tolerance to abiotic factors, such as salinity and low water and nutritional availability, the species lacks information that helps to illustrate the mechanisms that contribute to its colonization in arid and semiarid regions. In this sense, the present study aimed to characterize and structure the chloroplast genome (cpDNA) of *C. procera*, through annotation, structure comparison and phylogenetic reconstruction for the Apocynaceae family. In this way, the genomic information was assembled with NOVOPlasty and annotated via GeSeq. The highly variable regions for the genus *Calotropis* were identified by DnaSP. For expansion/contraction analyses, cpDNA was compared with plastomes of the Apocynaceae family, identifying critical variations in the LSC/IRb/SSC/IRa junctions, based on annotations using IRscope. Finally, the phylogeny was reconstructed by the maximum likelihood (ML) method in RAxML, based on 117 complete plastomes. With the methodology, we described for the first time the plastome of the species, the data revealed a plastid genome with a circular structure and a GC content of 38.43%. The plastome encodes 133 genes, with 94 SSR loci identified and six highly variable regions were estimated for the genus (*trnK-UUU*, *matK*, *rps16*, *infA*, *ycf2* and *psbB*). The analysis between the LSC/IRb/SSC/IRa boundaries indicated that the *C. procera* genome presents variations between the JSB and JSA junctions, concentrated in the *ycf1*, tRNAs and rRNAs genes, which suggest significant evolutionary events, including specific adaptations to environments or selective pressures. The phylogenetic reconstruction of Apocynaceae strongly supports the monophyly of the genus *Calotropis* (*C. procera* and *C. gigantea*) and contributes to clarify taxonomic uncertainties in Hoya and the subfamily Periplocoideae. Finally, our results contribute to illustrating the mechanisms that led *C. procera* to withstand extreme environments and expand the genomic resources available in Apocynaceae.

Keywords: Plastome; Invasive exotic; SSRs; Phylogeny; Comparative genome; *Calotropis*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

- Figura 1 – Imagem adaptada de *Calotropis procera*. (a) *C. procera* em seu habitat (Praia de Maria Farinha-PE), com destaque a planta frutificada e florida. (b) Imagem aproximada das flores da espécie. (c) Fruto aberto e dispersão das sementes..... 16
- Figura 2 – Diagrama ilustrando o ciclo de desenvolvimento, a diversidade de formas plastidiais e suas interconversões entre os vários tipos de plastídios..... 30
- Figura 3 – Representação esquemática do genoma do cloroplasto. LSC = região grande de cópia única, SSC = região pequena da região de cópia única, IRa = repetição invertida A e IRb= repetição invertida B..... 32

ARTIGO – THE COMPLETE CHLOROPLAST GENOME, STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Calotropis procera* (APOCYNACEAE)

- Figura 1 – Mapa do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* (Apocynaceae). Os genes nas porções externa e interna do círculo são transcritos no sentido horário e anti-horário, respectivamente. Os genes pertencentes a diferentes grupos funcionais são codificados por cores e o círculo interno mostra suas localizações nas regiões LSC, SSC, IRa e IRb. As barras cinza-escuras no círculo interno correspondem ao conteúdo do GC..... 46
- Figura 2 – Microssatélites (*Simple Sequence Repeats*, SSRs) identificados no genoma cloroplastidial de *C. procera*..... 48
- Figura 3 – Detalhes dos vieses de uso de códons no plastoma de *Calotropis procera*. As barras (codificadas por cores) representam os valores relativos de utilização de códons sinônimos para cada tipo de aminoácido..... 50
- Figura 4 – Análise da diversidade de nucleotídeos (Pi) baseada nos genomas cp de *Calotropis procera* e *C. gigantea* (Apocynaceae) com um tamanho de janela deslizando de 600 pb e um tamanho de passo de 200 pb. O eixo X mostra as

posições dos nucleotídeos, enquanto o eixo Y representa os valores de diversidade de nucleotídeos..... 51

Figura 5 – Análise dos limites entre LSC/IRB/SSC/IRA e de genes adjacentes anotados entre seis genomas cloroplastidiais de Apocynaceae. Legenda das abreviações: JLB: região de limite entre LSC e IRB; JSB: linha de limite entre IRB e SSC; JSA: linha de limite entre SSC e IRA; JLA: linha de limite entre IRA e LSC..... 52

Figura 6A – Árvore filogenética reconstruída por análise de máxima verossimilhança (ML) com base em 88 sequências codificadoras de proteínas (CDS) de 117 espécies de Apocynaceae e dois grupos externos. Os números próximos aos ramos são porcentagens de suporte bootstrap (BS) obtidas a partir da inferência de máxima verossimilhança. O nós com BS = 100% estão sendo demonstrados com asteriscos..... 54

Figura 6B – Continuação - Árvore filogenética reconstruída por análise de máxima verossimilhança (ML) com base em 88 sequências codificadoras de proteínas (CDS) de 117 espécies de Apocynaceae e dois grupos externos. Os números próximos aos ramos são porcentagens de suporte bootstrap (BS) obtidas a partir da inferência de máxima verossimilhança. O nós com BS = 100% estão sendo demonstrados com asteriscos..... 55

LISTA DE TABELAS

ARTIGO – THE COMPLETE CHLOROPLAST GENOME, STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Calotropis procera* (APOCYNACEAE)

Tabela 1 – Características do genoma do cloroplasto de <i>Calotropis procera</i> (Apocynaceae).....	45
Tabela 2 – Categorias funcionais para os genes presentes no genoma do cloroplasto de <i>Calotropis procera</i>	47
Tabela S1 – Resumo das repetições de sequências simples nos genomas do cloroplasto de <i>Calotropis procera</i> . Estatísticas de distribuição de densidade de sete tipos de SSR. C, SSR composto; p1, mononucleotídeo; p2, dinucleotídeo; p3, trinucleotídeo; p4, tetranucleotídeo; p5, pentanucleotídeo; p6, hexanucleotídeo.....	73
Tabela S2 – Resumo dos padrões de uso de códons no genoma do cloroplastidial de <i>Calotropis procera</i>	78
Tabela S3 – Números de acesso do GenBank para os genomas de cloroplastos de 117 espécies de Apocynaceae e dois grupos externos utilizados neste estudo.....	81
Tabela S4 – Os comprimentos de íntrons e éxons para os genes <i>splitting</i>	85

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BS	Bootstrap
CDS	Sequências codificadoras de proteínas
cpDNA	DNA cloroplastidial
e-DNA	<i>Environmental DNA</i>
IR	Regiões de repetição invertida (<i>Inverted Repeat</i>)
J ^{LA}	Região de limite entre IRa/LSC
J ^{LB}	Região de limite entre IRb/LSC
J ^{SA}	Região de limite entre IRa/SSC
J ^{SB}	Região de limite entre IRb/SSC
LSC	Região de cópia única maior
ML	Método de máxima verossimilhança
NGS	<i>Next-generation sequencing</i>
Pb	Chumbo
PCGs	Genes codificadores de proteínas
Pi	Diversidade de nucleotídeos
PKs	Proteínas quinases
Plastoma	Genoma cloroplastidial
PLB	Corpos prolamelares
rRNA	RNA ribossomal
RSCU	Uso relativo de códons sinônimos
SDFs	Florestas Sazonalmente Secas
SSC	Região de cópia única menor
SSR	<i>Simple Sequence Repeat</i>
TFs	Fatores de transcrição
tRNA	RNA transportador
UETs	Transcritos expressos únicos
UR	Transcritos regulados positivamente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	14
1.1.1	Objetivo geral	14
1.1.2	Objetivos específicos	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	<i>CALOTROPIS PROCERA</i>	15
2.1.1	Caracterização e taxonomia	15
2.1.2	Características fisiológicas e adaptativas	18
2.1.3	Distribuição e ocorrência	21
2.1.4	Panorama genético	22
2.2	PLANTAS EXTREMÓFILAS	24
2.2.1	Características gerais e ambientes onde ocorrem	24
2.2.2	Ômicas de extremófilas	26
2.3	GENOMA PLASTIDIAL	29
2.3.1	Origem e características dos plastídios	29
2.3.2	Plastoma de angiospermas extremófilas	34
3	ARTIGO – THE COMPLETE CHLOROPLAST GENOME, STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF <i>Calotropis procera</i> (APOCYNACEAE)	37
4	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS	90
	PRODUÇÃO DURANTE O VÍNCULO COM O PPGGBM	100
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA	105

1 INTRODUÇÃO

Calotropis procera (Aiton) R. Br. conhecida popularmente como algodão-de-seda é uma planta lenhosa pertencente à família Apocynaceae. Originária de ambientes secos da África Ocidental e do Sul da Ásia (Abbassi et al., 2003; Grin, 2021), é conhecida pelo seu rápido crescimento e capacidade de florescer e frutificar durante todo o ano, em especial na estação seca (Andrade et al., 2005; Sobrinho et al., 2013). A espécie apresenta dispersão facilitada pelo sistema radicular profundo, caule raramente ramificado, folhas grandes cobertas por uma cera cuticular e pela produção de sementes aladas que facilitam a dispersão anemocórica (Staples & Herbst, 2005; Lorenzi & Matos, 2002). Por esse motivo, é notável por sua adaptabilidade às condições ambientais extremas, incluindo em solos pobres, ácidos, salinos ou com altos níveis de alumínio, além de ser igualmente descrita ocorrendo em áreas com baixa pluviosidade e de variações drásticas de temperatura (Costa et al., 2009).

Nessa perspectiva, trabalhos com a espécie têm ganhado destaque, uma vez que sua disseminação acelerada tem sido relatada em várias partes do mundo, incluindo a América do Sul, onde tornou-se exótica invasora com principal nucleação no bioma das Florestas Sazonalmente Secas (SDFs) (Gonçalves-Oliveira et al., 2022). A propagação rápida e eficaz de *C. procera* em novos ambientes levanta questões sobre os fatores que contribuem para sua capacidade invasiva. Embora estudos anteriores se concentrem nas características ecológicas, anatômicas e fisiológicas da espécie (Tabatinga-Filho, 2008; Melo et al., 2021; Igbal, Hameed & Ahmad, 2023; Rivas & Santos, 2023). A anotação dos genomas, incluindo o genoma cloroplastidial (cpDNA), pode revelar aspectos estruturais e funcionais que auxiliem na compreensão os mecanismos que permitem *C. procera* prosperar em condições extremas (Artigo 1).

Neste sentido, o cpDNA está entre as estruturas mais estudadas do genoma vegetal, uma vez que participa de processos vitais como fotossíntese e funções relacionadas à resposta fisiológica (Yagi & Shiina, 2014; Zhang et al., 2020). O cpDNA é geralmente representado por uma molécula circular (Kolodner Tewari, 1972; 1979), constituído por duas regiões de repetição invertida (IRs), separadas por uma região

de cópia única menor (SSC) e uma região de cópia única maior (LSC). Nessas regiões são encontrados diferentes genes codificadores de proteínas (PGCs), rRNA e tRNA (Huang et al., 2013) que exercem funções vitais.

Embora o genoma cloroplastidial mantenha um nível elevado de conservação, os eventos de contração e expansão de genes podem favorecer o entendimento de questões estruturais e evolutivas de *C. procera*, contribuindo para sanar lacunas sobre as estratégias adaptativas da espécie para sobrevivência em ambientes extremos (Kaur et al., 2021). Adicionalmente, marcadores moleculares baseados no cpDNA podem ser valiosos para futuros estudos de diversidade genética, análises filogenéticas e investigações filogeográficas em níveis mais profundos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Caracterizar e disponibilizar, pela primeira vez, a anotação completa do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera*, incluindo sua descrição, análise estrutural e reconstrução filogenética do cpDNA recém-gerado comparativamente a outros recursos genômicos cloroplastidiais disponíveis para a família Apocynaceae.

1.1.2 Objetivos específicos

- Descrever detalhes de montagem e primeira anotação do cpDNA completo de *Calotropis procera*;
- Conhecer e caracterizar a composição de regiões de sequências simples repetidas (SSR);
- Identificar as regiões cloroplastidiais altamente variáveis para o gênero *Calotropis*;
- Fornecer informações sobre a análise comparativa entre as regiões LSC/IRs/SSC dos genomas cloroplastidiais da família Apocynaceae.
- Reavaliar a filogenia da família Apocynaceae com base nas sequências codificadoras de proteínas;

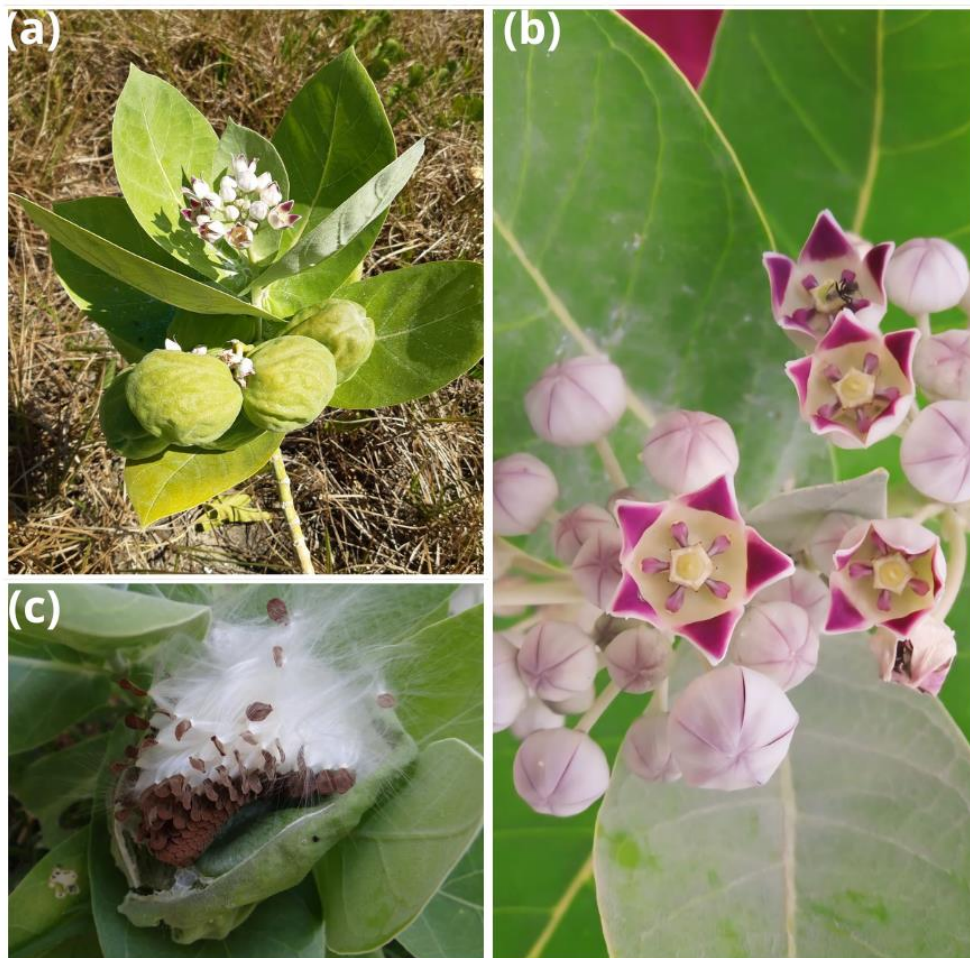
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *CALOTROPIS PROCERA*

2.1.1 Caracterização e taxonomia

Calotropis procera (Aiton) R. Br. é classificada na família Apocynaceae Juss. Apresenta hábito arbóreo ou arbustivo e perene, capaz de crescer entre 2,5 e 3,0 metros, podendo alcançar até 6,0 metros de altura (Figura 1). Possui um sistema radicular profundo, caule redondo (raramente ramificado) e folhas grandes de cor verde-clara, dispostas em filotaxia oposta, cobertas por uma cera cuticular (Cabi, 2021). Apresenta crescimento rápido (Andrade et al., 2005) e, apesar de florescer e frutificar durante todo ano, observa-se uma maior incidência desses eventos durante a estação seca (Sobrinho et al., 2013). De modo geral, uma planta frutificada produz milhares de sementes aladas, envoltas por uma plumagem que facilita a sua dispersão pelo vento (Staples & Herbst, 2005; Lorenzi & Matos, 2002). Por esse motivo é popularmente chamada de flor-de-seda, algodão-de-seda, saco-de-velho, entre outros (Flora do Brasil, 2021).

Figura 1. Imagem adaptada de *Calotropis procera*. (a) *C. procera* em seu habitat (Praia de Maria Farinha-PE), com destaque a planta frutificada e florida. (b) Imagem aproximada das flores da espécie. (c) Fruto aberto e dispersão das sementes.



Fonte: A autora (2024)

Tal como ocorre com outras espécies da família Apocynaceae, *C. procera* produz látex em abundância, principalmente quando lesionada ou ferida (Lorenzi & Matos, 2002). De modo geral, as plantas da família citada, são reconhecidas pela presença de canais laticíferos, formação de uma região expandida na porção apical do estilete, produção de viscosidade no gineceu, ovário dividido em dois carpelos unidos pelo estilete e estigma, além de flores actinomorfas (Endress et al., 2014). Trata-se de uma das dez maiores famílias de Angiospermas, incluindo 378 gêneros e cerca de 5.000 espécies, distribuídas globalmente, com exceção da Antártica. Maiores níveis de riqueza de espécie são encontrados em regiões tropicais e subtropicais

(Endress et al., 2018; Cabi, 2021), locais onde densas populações podem ser vistas habitando diferentes ambientes, com formas de crescimento e características morfológicas distintas (Ollerton et al., 2019, Bitencourt et al., 2021).

Inicialmente, Apocynaceae (*stricto sensu*) e Asclepiadaceae eram reconhecidas como duas famílias distintas, mas intimamente relacionadas com base no valor taxonômico dos polinários (Brown, 1810). Cinco subfamílias subdividiam as famílias, sendo que Rauvolfioideae e Apocynoideae estavam inclusas em Apocynaceae s.str., enquanto Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae estavam classificadas entre as Asclepiadaceae (Brown, 1810; Endress, 2004; APG II). No entanto, estudos morfológicos e moleculares, não indicaram monofiletismo, demonstrando que Asclepiadaceae compreendem um clado com caracteres derivados dentre as Apocynaceae (*lato sensu*), indicando que as duas famílias deveriam ser unificadas (Simões et al. 2007; Livshultz et al. 2007; Fishbein et al. 2018).

Dessa forma, em sua circunscrição atual sustentada por dados filogenéticos (Simões et al. 2007; Livshultz et al. 2007; Fishbein et al. 2018), cinco subfamílias são reconhecidas em Apocynaceae: Rauvolfioideae Kostel., Apocynoideae Burnett., Periplocoideae R. Br. ex Endl., Secamonoideae Endl. e Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett (Endress & Bruyns, 2000; Endress et al. 2014). Destas, apenas Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae ocorrem no Brasil, sendo Periplocoideae e Secamonoideae representada por algumas poucas espécies cultivadas (Viana, Santos & Simões, 2017).

Dentre as subfamílias, merece destaque, o grupo das Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett, compreendendo a maior subfamília de Apocynaceae. São caracterizadas por possuir estruturas capazes de secretar substâncias químicas atrativas como néctar, pólen e óleos voláteis para a atração de polinizadores (Rapini et al, 2007). Compreendem aproximadamente 3.000 espécies distribuídas em 170 gêneros em regiões tropicais e temperadas, principalmente nas Américas e na África (Rapini, Van den Berg & Liede-Schumann, 2007; Rapini, 2012). Nesse contexto, a América do Sul, em especial, é considerada como um dos principais centros de diversidade da subfamília, com o Brasil destacando-se com cerca de 32 gêneros e 392 espécies, figurando entre os países com a maior diversidade de espécies do grupo (Rapini, 2012). Além disso, a subfamília apresenta dados filogenéticos consolidados, com

membros classificados em cinco tribos: Fockeeae, Asclepiadeae, Eustegieae, Ceropegieae e Marsdenieae (Nazar et al., 2019; Endress, Liede-Schumann & Meve, 2014).

Dentro de Apocynaceae, o pequeno gênero *Calotropis* R. Br., pertencente à tribo Asclepiadeae, é nativo da Ásia, mas naturalizou-se em climas quentes como uma planta invasora e daninha, a qual comumente cresce em ambientes perturbados (Colombo et al., 2007). Este gênero, compreende duas espécies-irmãs amplamente distribuídas: *C. procera* (Ait.) R. Br. e *C. gigantea* (L.) W.T.Aiton. Ambas podem ser por vezes confundidas; no entanto, diferem morfológicamente pelo tamanho, pois *C. gigantea* cresce até mais de 4,5 metros com folhas menores e caules grossos em comparação com *C. procera* (Crothers & Newbound, 1998). Outro caráter distintivo refere-se à cor dos botões florais (roxo e esbranquiçado, respectivamente) (Verma, 2014). Além das semelhanças morfológicas, estima-se que as espécies também apresentem compatibilidade nos seus perfis fitoquímicos (Srivastava et al., 2015). Membros do gênero têm sido amplamente utilizados na medicina tradicional com evidências de atividades antibacterianas, anti-inflamatórias, antifúngicas e analgésicas a partir de extratos das folhas, raízes e do látex (Panda et al., 2010; Ezzat et al., 2015).

2.1.2 Características fisiológicas e adaptativas

Plantas que resistem a ambientes extremos apresentam adaptações distintas que as capacitam a manter seu crescimento, mesmo diante de condições climáticas adversas. As diferentes condições, incluindo chuva, aridez, seca e salinidade, assim como variações de temperaturas e incidência solar, influenciam as comunidades de plantas, incluindo a forma como se estabelecem e prosperam em um determinado ecossistema (Li et al., 2019). Tais fatores desempenham um papel crucial no crescimento e na fixação das populações em um determinado ambiente.

Dentre as plantas que conseguem prosperar em ambientes adversos, as espécies invasoras exóticas podem ser capazes de se estabelecer e de expandir sua distribuição em um novo hábitat, por meio de novas estratégias ecológicas e

adaptativas. Por conseguinte, ameaçam a biodiversidade local por gerar competição com espécies nativas (Leão et al., 2011). Um exemplo deste fenômeno envolve a *Calotropis procera*, espécie exótica e invasora capaz de se adaptar a diferentes condições, manter certa plasticidade e estabelecer-se mesmo em condições perturbadas (Igbal, Hameed & Ahmad, 2023).

Esta espécie apresenta padrões variados entre comportamento, organização e ajustes que juntos funcionam para uma melhor resposta aos ambientes adversos (Igbal, Hameed & Ahmad, 2023). As características dos caules e folhas são peculiares por apresentarem canais lactíferos, cutícula densa e uma área foliar relativamente baixa, variações morfológicas que auxiliam na conservação dos recursos adquiridos pela planta (Tezara et al., 2011; Hassan et al., 2015; Pompelli et al., 2019). As folhas tendem a apresentar certa plasticidade morfológica a depender das condições ambientais em que se encontram. Em condições ótimas de umidade tendem a ser mais estreitas e espessas, enquanto se tornam mais largas e finas em ambientes secos (Pompelli et al., 2019). Essa variação contribui para a formação de uma barreira que reduz a perda de água por transpiração, ajudando a planta a reter água e a lidar com condições de déficit hídrico (Pompelli et al., 2019).

Algumas características adaptativas também merecem destaque, como o padrão reprodutivo e a fenologia de *C. procera* (Tabatinga-Filho, 2008), dispersão pelo vento (Sobrinho et al., 2013), sistema radicular profundo (Sharma, 1968; Grace, 2006), anatomia foliar (Melo et al., 2021; Igbal, Hameed & Ahmad, 2023), mecanismos complexos de defesa contra herbívoros e patógenos (Sehgal et al., 2005; Arya & Kumar, 2005; Shivkar & Kumar, 2003) e tolerância a estresses abióticos com destaque para a seca e a salinidade (Rivas & Santos, 2023; Frosi et al., 2013; Igbal, Hameed & Ahmad, 2023).

A reprodução vegetativa da espécie é um dos fatores chave para sua rápida colonização, uma vez que a planta é capaz de regenerar-se a partir de partes do caule ou rizoma (Tabatinga-Filho, 2008), permitindo sua propagação mesmo em condições adversas. Além disso, a espécie é capaz de transicionar rapidamente da fase de crescimento para a fase reprodutiva com fenologia perenifólia, ou seja, folhagem e floração persistentes durante todo o ano (Ghazoul, 2002), o que garantem uma

produção constante de sementes ao longo do ano, maximizando suas chances de reprodução e dispersão.

As flores do gênero *Calotropis* são altamente especializadas e apresentam uma estrutura floral complexa, com um sistema reprodutivo hermafrodita (Tabatinga-Filho, 2008). Apesar dessa condição, a espécie é predominantemente alógama, dependendo de polinizadores para a transferência de pólen e favorecendo a polinização cruzada (Rejmánek, 2000). No entanto, *C. procera* é considerada autocompatível, permitindo a autopolinização em determinadas circunstâncias, embora essa via reprodutiva seja limitada pela morfologia floral e pelo comportamento dos polinizadores, que tendem a promover a polinização cruzada (Barret et al. 2007; Ghazoul, 2002).

Na literatura é relatada uma estreita relação coevolutiva entre *Calotropis* e abelhas do gênero *Xylocopa* L., consideradas os principais polinizadores da planta em áreas nativas. Embora essas abelhas também sejam encontradas em regiões da Caatinga (Zanella, 2000), estudos indicam que, nesses ambientes, elas não estão diretamente associadas à polinização de *C. procera* (Tabatinga-Filho, 2008). Nessas áreas, a planta parece depender de visitantes florais mais generalistas, o que pode ser uma adaptação à ausência de polinizadores específicos, facilitando sua reprodução em diferentes ecossistemas (Tabatinga-Filho, 2008). Além disso, a dispersão anemocórica é facilitada pela morfologia alada das sementes, envoltas por uma plumagem semelhante ao algodão, o que lhes permitem serem facilmente transportadas por longas distâncias (Sobrinho et al., 2013; Igbal, Hameed & Ahmad, 2023).

As adaptações no sistema radicular permitem acessar fontes de água em solos áridos e pobres em nutrientes, como ambientes de dunas. As raízes profundas e ramificadas são capazes de explorar grandes volumes de solo em busca de umidade, enquanto suas raízes laterais aumentam a superfície de absorção (Sharma, 1968). Além disso, em áreas propensas a incêndios florestais, a planta demonstrou habilidade para sobreviver e se regenerar após o fogo, graças às suas raízes e à capacidade de rebrotar rapidamente a partir de rizomas subterrâneos (Grace, 2006). Ainda, a baixa condutância estomática é importante para manter o potencial hídrico em momentos de escassez hídrica (Rivas et al., 2017).

A anatomia foliar de *C. procera* com a presença de tricomas, contribuem para reduzir a perda excessiva de água por meio da transpiração, além de proteger as folhas dos raios solares (Melo et al., 2021). Aumentando a capacidade de realizar a fotossíntese de forma eficiente, mesmo em condições de altas temperaturas e luminosidade (Igbal, Hameed & Ahmad, 2023). Além disso, a espécie possui uma fisiologia adaptada que permite rápida recuperação após períodos de estresse hídrico e perda de folhas, como a capacidade de acumular solutos compatíveis em suas células para manter o equilíbrio osmótico e a homeostase iônica, rebrotando rapidamente quando as condições se tornam novamente favoráveis (Rivas & Santos, 2023; Frosi et al., 2013).

Outra característica envolve a capacidade de *C. procera* de sintetizar compostos químicos, uma vez que o látex produzido contém uma variedade de compostos bioativos, incluindo alcaloides, flavonoides e terpenoides, que exibem atividades farmacológicas como anti-inflamatórias, analgésicas e antimicrobianas (Sehgal et al., 2005; Arya & Kumar, 2005). Além da toxicidade e ação repelente contra herbívoros e patógenos com a produção de fitoalexinas, em resposta à uma infestação (Shivkar & Kumar, 2003). Essas adaptações contribuem para a sobrevivência e o sucesso desta planta em diferentes ambientes ecológicos.

De modo geral, *C. procera* possui uma série de características fisiológicas e adaptativas que permitem que seus indivíduos colonizem ambientes extremos, apesar de existir uma infinidade de trabalhos que exploram fatores ecológicos, fisiológicos, anatômicos e medicinais em diferentes regiões onde a espécie habita. Existe uma relativa lacuna na literatura sobre as estratégias adaptativas da espécie para sobrevivência em ambientes semiáridos e áridos (Kaur et al., 2021).

2.1.3 Distribuição e ocorrência

Calotropis procera é nativa de ambientes secos da África Ocidental, no extremo sul de Angola, Norte e Leste da África, Madagascar, Península Arábica, Sul da Ásia, Índia, China até a Malásia (Abbassi et al., 2003; Grin, 2021). No entanto, a introdução de *C. procera* para além das regiões nativas levou à naturalização da espécie nas Américas, Austrália e em ilhas do Pacífico e Caribe (Hassan et. al., 2015; Grin, 2021).

Em decorrência de sua ampla distribuição, os indivíduos prosperam em diversos ambientes que variam de áridos, semiáridos a úmidos, podendo crescer em regiões de até 2.000 m de altitude (Hassan et al., 2015). Propõe-se que foi introduzida na América do Sul em meados do século XIX, como planta ornamental (Lorenzi; Matos, 2002; Crothers & Newbound, 1998), tornando-se posteriormente uma exótica invasora em ambientes secos com principal nucleação no bioma das Florestas Sazonalmente Secas (SDFs) (Gonçalves-Oliveira et al., 2022).

No nordeste do Brasil, *C. procera* é encontrada em especial em ambientes secos similares ao seu habitat de origem: regiões costeiras de restinga, cerrado, áreas urbanas degradadas e no principal núcleo de Floresta Sazonalmente Seca, sob o domínio morfoclimático da Caatinga (Sobrinho et al., 2013; Oliveira e Landim, 2020; Gonçalves-Oliveira et al., 2022). Nesses locais a espécie floresce em habitats abertos com pouca competição (Francis, 2002), incluindo regiões perturbadas pelo homem (áreas de pastagens, abandonadas e urbanas degradadas) e áreas abertas de ambientes extremos (dunas costeiras, margens arenosas de rios e estradas) (Khan et al., 2007; Meenge et al., 2016). Nesses locais a erradicação da espécie é dificultada, uma vez que apresenta uma notável capacidade de suportar condições climáticas desfavoráveis em solos deficientes de nutrientes (Lqbal et al., 2023b).

Trabalhos de modelagem ecológica baseados em projeções de mudanças climáticas sugerem que habitats mais ao norte e nordeste da Austrália – em áreas que ainda não são invadidas pela espécie – estão em potencial risco de invasão em projeções futuras (Menge et al., 2016b). Na América do Sul, todos os cenários recuperados de mudanças climáticas apontam para um grande potencial de expansão nas SDFs, com perspectivas mais preocupantes nos Llanos na Venezuela, no Cerrado no Brasil e no Chaco (Gonçalves-Oliveira et al., 2022). Na Caatinga, existe preocupação com a expansão para brejos de altitude, que estão ameaçados em alguns cenários de mudanças climáticas (Gonçalves-Oliveira et al., 2022).

2.1.4 Panorama genético

Em decorrência do potencial invasor o conhecimento genético de *Calotropis procera* tem avançado de maneira significativa, elucidando diferentes aspectos

genômicos da espécie. Entre esses avanços, destaca-se a publicação do genoma nuclear em nível cromossômico, o qual apresenta um tamanho estimado de 202,83Mb, distribuídos em 11 cromossomos, com número cromossômico $2n = 22$ (Gadri et al., 2025). O genoma é composto por 20.660 genes codificadores de proteínas, um número significativamente maior em comparação com outros genomas de plantas da família Apocynaceae sequenciados (Gaafar et al., 2024). Além disso, a análise funcional das sequências codificadoras revelou uma gama genes envolvidos em processos cruciais, como tolerância ao estresse ambiental, fotoaclimação (adaptação da fotossíntese a diferentes intensidades de luz), transporte de membrana vacuolar e desintoxicação de compostos nitrogenados, todos eles importantes para a sobrevivência em condições adversas, como seca e solos pobres em nutrientes (Gaafar et al., 2024; Gadri et al., 2025).

Paralelamente, estudos de transcriptômica e metabolômica tem o potencial de revelar importantes rotas metabólicas, como as envolvidas na biossíntese de cardenólídeos (CGs), compostos esteroidais de reconhecida relevância farmacológica (Pandey et al., 2016). Nesse contexto, diversos genes candidatos relacionados a essas vias foram identificados em plântulas saudáveis e estressadas. Enquanto que nas plântulas injuriadas houve uma elevação, tanto nos níveis de CGs quanto a expressão dos genes relacionados à sua biossíntese, evidenciando o potencial biotecnológico da espécie (Pandey et al., 2016).

Além disso, análises de expressão gênica sob condições de estresse hídrico e salino mostraram que a espécie ativa diversos mecanismos de defesa (Mutwakil et al., 2017). Essas mudanças estão relacionadas a indução de diferentes efeitos, incluindo as alterações da morfologia da célula-guarda para reduzir a perda de água, a rigidez da parede celular e o acúmulo de metabólitos afim de equilibrar a pressão osmótica. Além dos ajustes hormonais, com a sinalização por inositol sendo induzida em resposta ao estresse hídrico (Mutwakil et al., 2017).

Em estudos populacionais, o uso de marcadores moleculares, em especial microssatélites (*Simple Sequence Repeat* ou Sequências Simples Repetidas; SSRs), tem permitido avaliar com precisão a diversidade e a estrutura das populações. Com base em marcadores derivados do transcriptoma, estudos em populações naturais ao norte da Índia revelaram níveis moderados de diversidade genética ($N_a = 3,625$, $H_o =$

0,58), valores compatíveis com espécies adaptadas a ambientes extremos (Majeed et al., 2020). De maneira geral, em seu habitat nativo, *C. procera* apresenta baixa variabilidade genética (Muriira et al., 2018). Em áreas onde se caracteriza como exótica invasora, como no caso do Brasil, estudos em andamento sugerem que apenas alguns indivíduos, advindos de uma única população podem ter introduzido a espécie na América do Sul. Essa conclusão é baseada em uma abordagem que utiliza marcadores microssatélites em populações distantes das Américas (dados não publicados).

2.2 PLANTAS EXTREMÓFILAS

2.2.1 Características gerais e ambientes onde ocorrem

Organismos extremófilos ou extremófitos são notáveis por viverem sob condições ambientais consideradas extremas. Ao contrário de espécies ou ecótipos que podem apenas tolerar essas condições, os extremófilos demonstram uma maquinaria altamente especializada, incluindo táxons que abrangem todos os três domínios (Bacteria, Archaea e Eukarya) (Cavicchioli, 2002; Rothschild & Mancinelli, 2001). O termo "extremo" é relativo e toma como referência o homem, englobando um amplo conjunto de condições ambientais que podem ser consideradas extremas (Cavicchioli, 2002).

As plantas por exemplo, são encontradas em uma variedade de habitats adversos, incluindo desertos, gradientes latitudinais (árticos) e altitudinais (montanhas), manguezais, ambientes salinos, geotérmicos e locais contaminados por metais pesados dentre outros (Szabados et al., 2011). Suas habilidades de adaptação são resultado de um longo processo evolutivo, no qual foram fixadas uma série de estratégias para sobrevivência e reprodução em condições desafiadoras (Kramer, 2018).

Esses organismos são capazes de viver e até mesmo exigir para sua sobrevivência condições físicas ou geoquímicas extremas considerando-se condições como temperatura, umidade, pressão, salinidade e pH, entre outros fatores. Em termos, as extremófilas incluem as halófitas (que crescem em solos com alta salinidade), xerófitas (que crescem em ambientes secos e áridos), plantas de

ressurreição (que sobrevivem à desidratação ou dessecação quase completa mesmo ao longo de anos) ou ainda hiperacumuladoras de metais (que crescem em solos ou águas com níveis extremos de metais, concentrando tais metais em seus tecidos vivos) (Uzilday & Gani, 2023; Rothschild & Mancinelli, 2001).

Por exemplo, em regiões com altos níveis de salinidade, como salinas costeiras e desertos salgados, plantas halófitas do gênero *Limonium* Mill. desenvolveram mecanismos para acumular, excretar e manter o equilíbrio osmótico por meio de um poderoso sistema antioxidante, incluindo polifenóis com alta taxa eliminatória de radicais livres (Riviere et al., 2017; Flowers & Colmer, 2008). Além disso, características anatômicas específicas desempenham um papel significativo na tolerância ao sal. Por exemplo, as glândulas salinas são adaptações morfológicas comuns em algumas espécies de manguezais negros, como *Avicennia* spp., permitindo a excreção do excesso de sais através da superfície das folhas (Popp, 1995; Popp & Albert, 1995).

Enquanto que, os mecanismos desenvolvidos por espécies hiperacumuladoras de metais como no caso da alga carófito *Microsterias denticulata* Brébisson ex Ralfs, visam reduzir totalmente os impactos dos compostos tóxicos nas células da planta, por meio de uma estratégia de detoxificação, como quelação de metais pesados como fitoquelatinas (processo químico onde um composto se liga a íons metálicos para formar um complexo estável) e a formação de complexos insolúveis que se dissolvem no processo de morte celular natural (Volland et al., 2014).

Em regiões áridas e semiáridas como a Caatinga pernambucana, onde a disponibilidade de água é limitada, as plantas xerófitas da família Cactaceae são bem características. Essas plantas apresentam adaptações como a capacidade de armazenar água em seus tecidos, reduzindo a transpiração através de estômatos altamente especializados, além de desenvolver raízes superficiais e profundas para absorver a umidade do solo (Nobel, 2002).

Nesses locais destacam-se também as Bromeliaceae, com plantas onde a presença de tanque (fitotelma) foi responsável pelo sucesso evolutivo e permitiu habitar diversos ambientes (Givnish et al., 2014). Essas estruturas abrigam um microclima específico para a ocorrência de várias espécies de seres vivos associados (Rocha et al., 2004; Benzing, 2000). Diferentes gêneros da família apresentam

estratégias distintas de sobrevivência, a exemplo do gênero *Tillandsia* L. com representantes atmosféricos, que apresentam raízes reduzidas, mas com epiderme densamente coberta por tricomas, responsáveis pela absorção de água diretamente da atmosfera (De Oliveira et al., 2021; Leroy et al., 2022). Por sua vez, outros gêneros da família, como no caso de *Dyckia* Schult. & Schult.f. a morfologia é bem característica a partir da sobreposição da base das folhas combinadas com acúleos, garantindo o armazenamento e absorção de nutrientes pelas folhas (Leroy et al., 2022; Forzza, 2005).

Outro ambiente extremo são as regiões montanhosas, onde as plantas enfrentam condições como baixas temperaturas, altitudes elevadas e ventos fortes. Plantas adaptadas a esses ambientes, como as espécies da família Brassicaceae, desenvolveram estratégias como a produção de substâncias anticongelantes, crescimento compacto e tolerância ao vento (Körner, 2003). Além disso, em alguns casos, as plantas extremófilas desenvolveram adaptações específicas para atrair e recompensar polinizadores em ambientes adversos, como cores vivas, odores atraentes e néctar rico em energia, assim estabelecendo uma relação coevolutiva (Tabatinga-Filho, 2008).

Essa capacidade de sobreviver e prosperar em ambientes extremos desafia as noções convencionais sobre os limites da vida e oferece informações valiosas sobre os mecanismos de adaptação e evolução dos organismos em resposta a condições ambientais adversas.

2.2.2 Ômicas de extremófilas

A capacidade de sequenciamento de um genoma completo marca o ponto inicial para o surgimento de uma nova gama de abordagens voltadas à compreensão da estrutura, função e evolução do material genético. Um dos marcos mais importantes foi o esforço colaborativo do Projeto Genoma Humano em 1990 (Lander et al., 2001). No entanto, à medida que o número de trabalhos publicados aumentou e a técnica de sequenciamento ganhou novas abordagens além de tornar-se mais acessível e eficiente, ficou evidente que apenas a identificação de genes não seria suficiente para compreender a complexidade de um organismo. A fim de aprimorar e

aprofundar a compreensão desses processos, surgiram as chamadas "Ciências Ômicas", que incluem abordagens como a genômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica e a mais recente metagenômica.

A genômica concentra-se no estudo do genoma completo de um organismo, incluindo a identificação de genes e variantes genéticas (Hudson et al., 2009). Por outro lado, a transcriptômica se dedica à análise do transcriptoma, ou seja, o conjunto de todos os RNAs transcritos em uma célula ou tecido em um determinado momento (Wang et al., 2009). Por sua vez, a proteômica tem como objetivo identificar e caracterizar todas as proteínas presentes em uma célula, tecido ou organismo em um dado momento e situação, bem como suas modificações pós-traducionais (Aebersold & Mann, 2003). A metabolômica se concentra no estudo do conjunto de metabólitos presentes em um organismo ou sistema biológico em um determinado momento, fornecendo informações sobre vias metabólicas, regulação e interações entre diferentes classes de moléculas (Fiehn, 2002). Por fim, destaca-se a metagenômica, que consiste na análise genômica e funcional do DNA ambiental (e-DNA, *environmental DNA*) compreendendo todas as sequências de DNA de um determinado local, órgão ou tecido, sem a necessidade de isolamento e cultivo prévio em laboratório (Handelsman et al., 1998).

As ômicas tornaram-se cada vez mais relevantes e consolidaram-se por meio de novas técnicas de sequenciamento e aquisição de dados, transformando-se em potentes ferramentas para elucidação dos processos regulatórios e funcionais em diferentes níveis celulares. Uma das áreas de foco tem sido a identificação de genes e vias metabólicas envolvidas na resposta ao estresse, bem como na manutenção do crescimento e desenvolvimento sob condições adversas (Hudson et al., 2009; Fiehn, 2002).

Um exemplo recente desse enfoque aborda a comparação de metabólitos expressos entre espécies halófitas do gênero *Salicornia* L. (Benjamin et al., 2019), que incluem as suculentas que crescem em regiões entremarés sob condições de salinidade. Foram identificadas respostas distintas à salinidade nas raízes *Salicornia brachiata* (Roxb.), *S. maritima* Wolff & Jefferies e *S. portulacastrum* L. Na primeira, os níveis de flavonoides e demais compostos fenólicos (compostos antioxidantes que desempenham papéis importantes contra danos oxidativos) aumentou na presença

de NaCl, enquanto que em *S. portulacastrum* esses níveis diminuíram, tendo uma presença mais expressiva de carotenoides, que também possuem papel antioxidante. Ainda, os parâmetros de prolina (aminoácido não essencial que desempenha papel na estabilidade estrutural de proteínas, na regulação osmótica e na proteção contra estresses abióticos), aumentou de acordo com as concentrações de NaCl nas espécies *S. maritima* e *S. portulacastrum*. Além disso, glicina, betaína e polióis, foram acumulados em *S. marítima* e *S. branchiata*. De modo geral, o trabalho constata que os metabólitos encontrados atuam como osmólitos, ajudando na regulação osmótica e na proteção contra os danos oxidativos associados ao excesso de sal no ambiente (Benjamin et al., 2019).

No domínio da Caatinga as plantas xerófitas têm revelado uma gama diversificada de adaptações. Uma abordagem transcriptômica do tecido radicular de *Stylosanthes Scabra* Vogel, sob déficit hídrico revelou um conjunto diversificado de transcritos expressos, envolvendo 236.712 transcritos expressos únicos (UETs). A análise de expressão diferencial revelou baixa modulação transcricional no tratamento de déficit hídrico no tratamento de 6 horas após imposição do estresse, enquanto o tratamento de 24 horas apresentou alta modulação, com 4.630 transcritos diferencialmente expressos. Esses transcritos regulados positivamente (UR) abrangeram 129 processos biológicos distintos, com destaque para processos como metabolismo do estresse oxidativo e biossíntese de aminoácidos celulares. Além disso, foram identificados fatores de transcrição (TFs) e proteínas quinases (PKs) expressos diferencialmente, com várias famílias destacando-se na resposta ao déficit hídrico. Dessa forma, os resultados revelaram uma série de alterações transcripcionais, indicando uma resposta complexa da planta ao estresse hídrico em nível molecular (Ferreira-Neto et al., 2022).

Em um outro exemplo, desta vez investigando o perfil proteômico de caules, raízes e folhas de *Erythroxylum pungens* O.E.Schulz. (Erythroxylaceae) (Chacón et al., 2021) foram identificadas 3.055 proteínas. Os resultados revelaram uma distribuição estratégica dessas proteínas relacionadas à defesa em diferentes órgãos, indicando uma adaptação da espécie às condições extremas da Caatinga. Proteínas predominantes em raízes estavam envolvidas na resposta a estresses, enquanto caules exibiam proteínas associadas à síntese proteica e regulação, e folhas

mostravam abundância de proteínas ligadas à fotossíntese e glicólise. De modo geral, o perfil proteômico revelou um conjunto significativo de proteínas não caracterizadas, sugerindo pistas importantes para a adaptação da espécie ao ambiente semiárido.

Enquanto que uma análise combinada de transcriptoma e metaboloma da espécie *Cuminum cyminum* L. uma erva anual também conhecida popularmente como cominho (Guo et al., 2018). Visou compreender as alterações metabólicas nas raízes em resposta ao estresse de chumbo (Pb). A combinação das duas abordagens indicou correlações entre genes e metabólitos. A expressão de genes associados ao crescimento hormonal, citocinina e ácido abscísico aumentou sob estresse de Pb, enquanto os níveis de glutathione foram elevados pela planta para mitigar a toxicidade do Pb. Esses resultados sugerem que *C. cyminum* modula seus níveis metabólicos e de expressão gênica para aumentar a tolerância ao estresse de chumbo, de modo geral os trabalhos que associam diferentes ômicas trazem uma compreensão mais abrangente e integrada sobre os objetivos estudados.

De modo geral, os trabalhos aplicando as ômicas em plantas extremófilas, fornecem importantes informações sobre as adaptações subjacentes à sua sobrevivência em ambientes desafiadores. E em grande parte são capazes de elucidar variações genéticas dentro e entre espécies extremófilas, revelando padrões de adaptação local, enfoque no qual a genômica se destaca.

2.3 GENOMA PLASTIDIAL

2.3.1 Origem e características dos plastídios

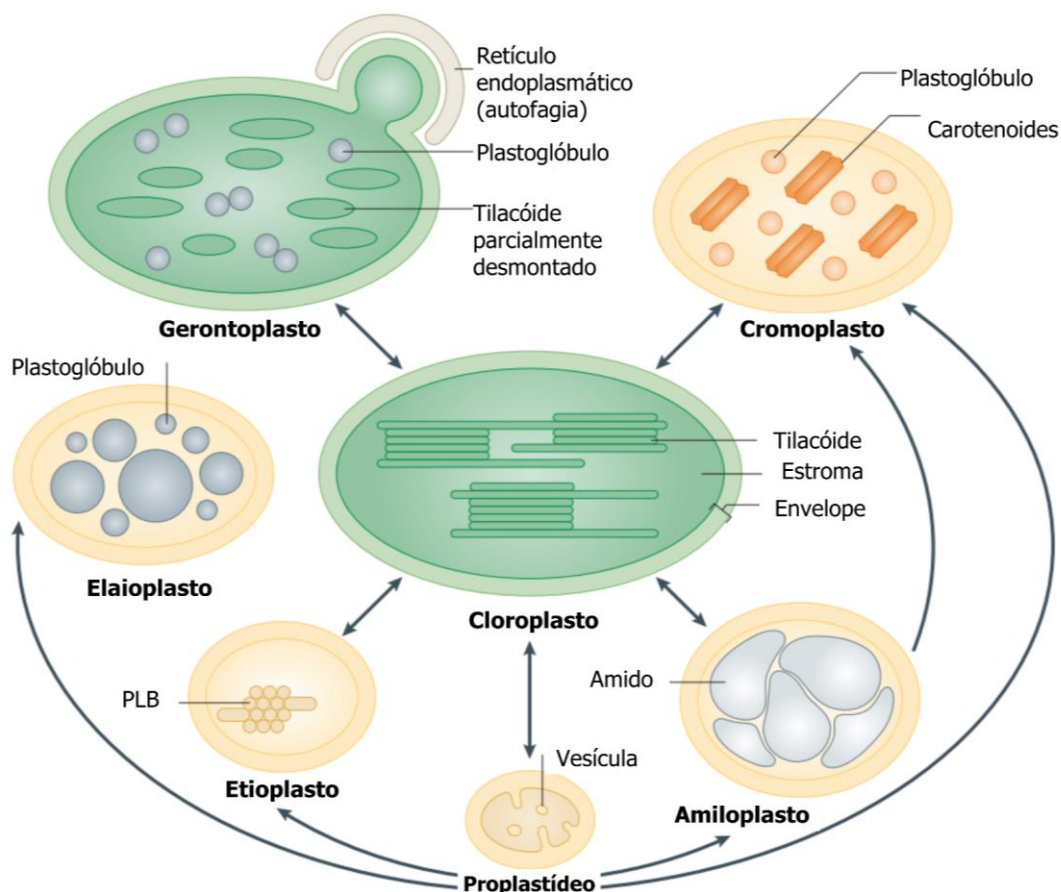
Os plastídios são organelas celulares encontradas em células vegetais que desempenham papéis fundamentais em processos metabólicos, como a fotossíntese, a síntese de lipídios e aminoácidos, além de armazenar pigmentos e outras substâncias. A origem dos plastídios remonta a um evento de endossimbiose, no qual uma célula ancestral eucariótica englobou uma cianobactéria, dando origem aos plastídios primários (Jarvis e López-Juez, 2013).

A evolução dos plastídios envolveu uma série de eventos endossimbióticos subsequentes, nos quais organismos hospedeiros englobaram células eucarióticas contendo plastídios primários. Esses eventos deram origem aos plastídios

secundários e terciários encontrados em diferentes grupos de algas eucarióticas e em plantas terrestres (Rolland et al., 2012; Jarvis e López-Juez, 2013). Como consequência desses eventos houveram perdas completas ou parciais de genes plastidiais, além da transferência de alguns para o genoma nuclear da célula hospedeira. Por esse motivo, apesar de possuírem genoma próprio, grande parte das proteínas plastidiais são codificadas no núcleo (Green et al., 2011; Rolland et al., 2012; Jarvis e López-Juez, 2013).

Nas plantas vasculares, os proplastídeos, inicialmente conhecidos como "eoplastos", que são plastídios indiferenciados encontrados nas regiões meristemáticas das plantas. Diferenciam-se em formas distintas de acordo com a função que irão desempenhar na célula (Figura 2). Por exemplo, os cloroplastos são responsáveis pela fotossíntese, os cromoplastos desempenham um papel crucial na síntese e armazenamento de pigmentos, enquanto os amiloplastos acumulam amido. Além disso, os elaioplastos armazenam lipídios, os etioplastos, são formados na escuridão e acumulam precursores de clorofila (em estruturas membranosas cristalinas chamadas de corpos prolamelares (PLB)). Por sua vez, os gerontoplastos se formam durante a senescência e são responsáveis pela reciclagem de nutrientes por meio da desmontagem da maquinaria fotossintética e autofagia (Jarvis & López-Juez, 2013; Sakamoto, Miyagishima & Jarvis, 2008; Lopez-Juez & Pyke, 2005).

Figura 2. Diagrama ilustrando o ciclo de desenvolvimento, a diversidade de formas plastidiais e suas interconversões entre os vários tipos de plastídios.



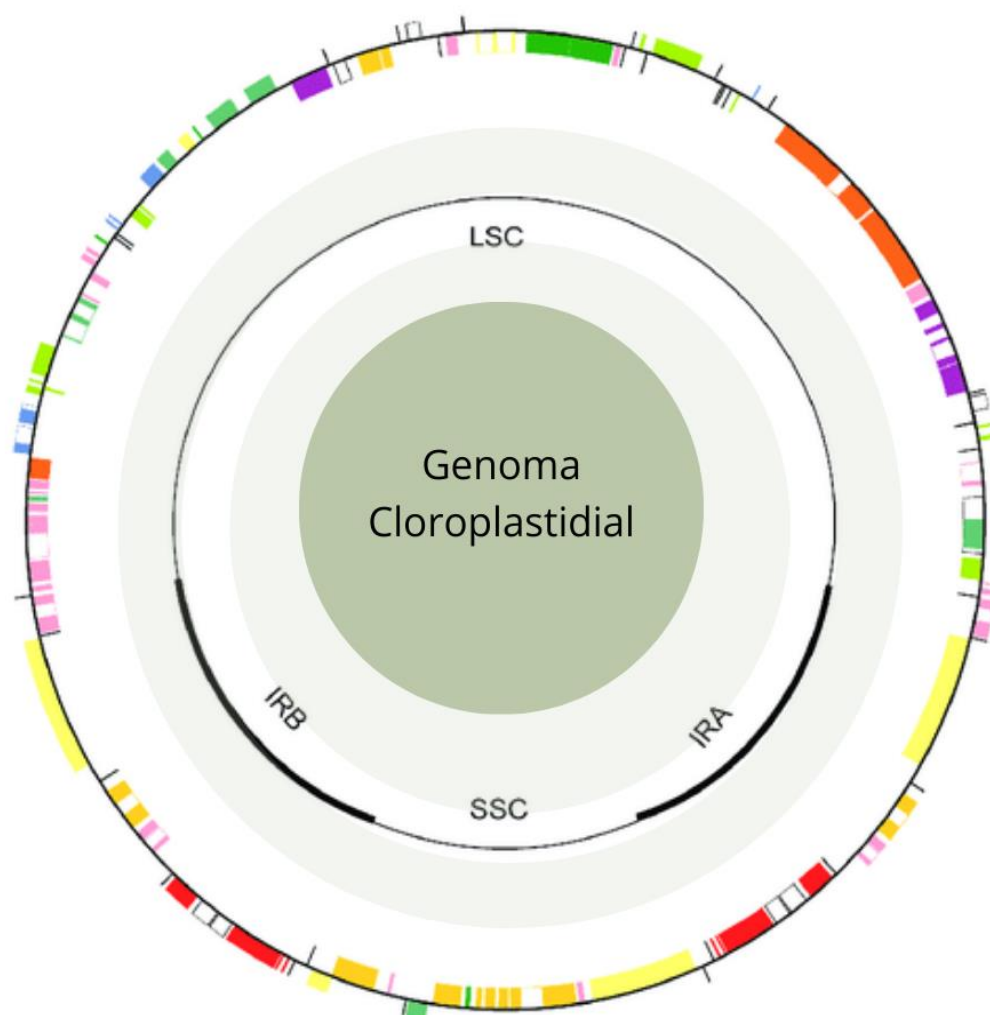
Fonte: Modificado de Jarvis & López-Juez, 2013.

Dentre os plastídios mais estudados, os cloroplastos se destacam por seu papel na fotossíntese, um processo no qual a energia luminosa é convertida em energia química para a produção de carboidratos. No entanto, para além da fotossíntese, também desempenham funções relacionadas ao metabolismo de elementos como nitrogênio, enxofre e fósforo (Taiz & Zeiger, 2004). Além da notável plasticidade mediada pelas respostas adaptativas das células aos fatores ambientais, especialmente à luz, onde mecanismos de interação e regulação são orquestrados pelos cloroplastos, influenciando aspectos metabólicos, fisiológicos e genéticos das plantas (Zelisko et al., 2005).

A organela é caracterizada por uma estrutura bem organizada, com três conjuntos de membranas em três compartimentos (Figura 3): 1- O espaço intermembranar (entre dois envelopes), locais para biogênese lipídica e translocação de proteínas codificadas no núcleo (Reumann et al., 2005). 2- O estroma (envolto pelo envelope interno), contém todas as enzimas necessárias para as reações de carbono da fotossíntese e síntese de moléculas orgânicas (Sakamoto, Miyagishima & Jarvis, 2008). 3- Lúmen do tilacóide (cercado pela membrana do tilacóide), estes formam um compartimento interligado achatado que se agrupam empilhados (granum) (Moreira, 2015).

Os cloroplastos possuem genoma próprio constituído por 120-180 Mb, na grande parte das plantas superiores (Maliga, 2004). Estruturalmente o plastoma é constituído por duas regiões de repetição invertida (IRs), separadas por uma região de cópia única menor (SSC) e uma região de cópia única maior (LSC) (Figura 2). Nessas regiões são incluídos genes ribossomais (16s, 23s e 5s), genes tRNA (cerca de 27-31), genes para a subunidade da RNA polimerase, genes para fotossistema I e II, citocromo, além de genes ligados à síntese de ATP (Huang et al., 2013). De modo geral, o plastoma está entre as estruturas mais estudadas do genoma da planta, sendo geralmente representado por uma molécula circular (Kolodner Tewari, 1972; 1979).

Figura 3 - Representação esquemática do genoma do cloroplasto. LSC = região grande de cópia única, SSC = região pequena da região de cópia única, IRa = repetição invertida A e IRb= repetição invertida B.



Fonte: Modificado de Ke et al., 2022

O conhecimento do genoma cloroplastidial tem sido de extrema relevância uma vez que a plasticidade apresentada permite que as plantas regulem a expressão gênica e a síntese de proteínas em resposta a mudanças ambientais (Zhang et al., 2020; Yagi & Shiina, 2014). Além disso, o plastoma tem sido amplamente utilizado em estudos filogenéticos e filogeográficos por meio da utilização de genes e espaçadores intergênicos como *rbcL*, *matK* e *trnH-psbA*, altamente informativos para determinar as

relações entre espécies (Huang et al., 2013). Essas abordagens têm sido cruciais para compreender as adaptações das plantas sob diferentes condições e para estabelecer relações evolutivas entre espécies vegetais.

2.3.2 Plastoma de angiospermas extremófilas

O plastoma das angiospermas abriga um conjunto conservado de aproximadamente 120 genes, com papel importante para a síntese de proteínas e RNA, necessários para o funcionamento adequado dos plastídios (Daniell et al. 2016). A quantidade de cloroplastos em uma célula de angiosperma pode variar dependendo do tipo de célula e das condições ambientais. Por exemplo, uma célula de mesófilo de folhas de angiospermas pode conter entre 20 a 100 cloroplastos. Essa variação também pode ser devido ao estágio de desenvolvimento da folha (Wise & Hooker, 2007).

Nas angiospermas, a herança do cloroplasto ocorre predominantemente por via materna, tratando-se de um genoma haploide (cada organismo possui apenas uma cópia desse genoma). Em comparação, nas coníferas (gimnospermas) os cloroplastos são geralmente herdados paternalmente (Birky, 1988), assim, enquanto nas angiospermas o cloroplasto descreve a história evolutiva através da função feminina (padrões de dispersão de sementes), nas coníferas é traçada relacionando com a função masculina (padrões de dispersão de pólen) (Birky, 1988).

A biogênese e o desenvolvimento dos cloroplastos divergem entre plantas dicotiledôneas e monocotiledôneas (Pogson & Albrecht, 2011). Enquanto em monocotiledôneas, como o arroz, a diferenciação dos cloroplastos ao longo da folha é notável, com regulação genética diferencial entre o lado adaxial e abaxial, em dicotiledôneas, como o milho, a diferenciação é mais rápida e ocorre em resposta à luz, envolvendo a formação de etioplastos seguida pela transformação em cloroplastos maduros (Pogson & Albrecht, 2011).

Embora a estrutura e o conteúdo genético dos plastomas sejam na grande maioria conservados, estudos recentes revelaram eventos atípicos, incluindo redução do tamanho do plastoma, novas configurações das IR, perda de vários genes e rearranjos específicos como exemplo na família Cactaceae (Solórzano et al. 2019;

Silva et al. 2021). Merece destaque a espécie ameaçada de extinção *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo, endêmica da Caatinga, cujo plastoma é considerado o mais divergente entre as espécies da família Cactaceae sequenciadas até o momento. Foram identificados rearranjos únicos, IRs expandidos contendo um conjunto incomum de genes e diversas perdas genéticas. Alguns genes relacionados ao complexo *ndH* foram perdidos durante a evolução do plastoma, enquanto outros perderam sua funcionalidade. Além disso, a perda de três genes de tRNA (*trnA*-UGC, *trnV*-UAC e *trnV*-GAC) sugere a transferência de tRNA do citosol para os plastídios (Dalla Costa et al., 2022).

De modo geral, a presença de regiões variáveis desempenha papel crucial na interação genótipo e ambiente. Por exemplo, os espaçadores intergênicos no plastoma, como o espaçador *trnH-psbA*, têm sido amplamente utilizados em estudos de filogenia e filogeografia devido à sua alta variabilidade e taxas de evolução (Scarcelli et al., 2011). Essas regiões genômicas fornecem marcadores moleculares úteis para inferir posicionamentos filogenéticos entre espécies e para estudar a dispersão e a evolução de populações em resposta a mudanças ambientais ao longo do tempo.

Em plantas halófitas, como espécies de manguezais, foi realizado um estudo com 14 plastomas completos com representantes de 5 ordens. De modo geral, os genomas das halófitas de manguezais são semelhantes em estrutura e conteúdo genético, com exceções apenas na retenção do gene do fator de iniciação da tradução *infA* em duas espécies de mangue (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. e a *Heritiera littoralis* Dryand.) (Shi et al., 2020). Os resultados sugerem uma possível convergência evolutiva em resposta às pressões seletivas, propondo-se que essas espécies possam ter desenvolvido estratégias genéticas semelhantes para lidar com altas concentrações de sal e outras condições adversas encontradas em ambientes salinos (Shi et al., 2020).

Por outro lado, ganhos de genes ou de regiões genômicas são observados em plantas acumuladoras de metais pesados, como em *Noccaea caerulea* (J. & C. Presl) F. K. Mey. Uma pesquisa de Lqnal et al. (2013) identificou a presença e amplificação do gene *AtHMA4*, envolvido na tolerância ao zinco no genoma

cloroplastidial dessa espécie. Esse ganho genômico pode contribuir para a acumulação eficiente de metais pesados em condições de solos contaminados.

Sob frio extremo vários genes cloroplastidiais são induzidos pela planta, sendo mediados pelo estresse, a exemplo dos genes regulados pelo frio (COR). A planta modelo *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh possui dois homólogos de COR15B, que são alinhados no mesmo cromossomo. De modo geral, na espécie o COR15B maduro é detectado apenas em folhas submetidas ao frio, não sendo detectado em folhas sem tratamento pelo frio ou raízes aclimatadas ao frio. Propõe-se que tal gene esteja envolvido no suporte à desidratação, que ocorre em plantas estressadas por baixas temperaturas (Liu, 2014).

Além disso, mutações pontuais podem afetar a expressão de proteínas envolvidas na fotossíntese, na síntese de pigmentos ou na regulação do metabolismo de amido, influenciando assim a capacidade da planta de realizar a fotossíntese sob diferentes condições ambientais (Pogson et al., 2015). Em Bromeliaceae, estudos genômicos têm revelado eventos de rearranjos estruturais, como duplicações de genes e inversões de segmentos genômicos, como no caso da duplicação do gene *ndhF*, envolvido na fotossíntese, em algumas espécies da família (Givnish et al., 2007). Além disso, foram relatados eventos de transferência horizontal de genes entre o plastoma e o núcleo celular, evidenciando a complexidade das interações genômicas entre essas organelas (Millen et al., 2001).

Na família Apocynaceae foram identificados eventos de perda de genes do plastoma, como o gene *accD*, *clpP* e *ycf1* em *Asclepias syriaca* (Straub et al., 2011), envolvidos na biossíntese de ácidos graxos. A perda desses genes pode afetar diretamente o metabolismo lipídico e a síntese de membranas celulares nas espécies afetadas (Straub et al., 2011). Por outro lado, em *Catharanthus roseus* (L.) G. Don uma espécie pertencente à mesma família, esses mesmos genes aparecem presentes (Ku et al., 2013). Variações encontradas na estrutura do plastoma entre diferentes gêneros, sugerem uma rápida evolução e uma diversificação genômica dentro da família. Essas divergências destacam a importância de Apocynaceae como um grupo modelo para estudos adicionais, visando à compreensão das relações evolutivas específicas dentro deste grupo.

**3 ARTIGO – THE COMPLETE CHLOROPLAST GENOME, STRUCTURE AND
PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *CALOTROPIS PROCERA*
(APOCYNACEAE)**

Manuscrito a ser submetido para publicação na revista Journal of Systematics and
Evolution (JSE)

The complete chloroplast genome, structure, and phylogenetic relationships of *Calotropis procera* (Apocynaceae)

Laura Maria Rodrigues-Paixão¹; Rodrigo César Gonçalves-Oliveira^{1, 2}; Eliseu Binneck³; Flávia Figueira Aburjaile⁴; José Ribamar Costa Ferreira-Neto¹; Ana Maria Benko-Iseppon¹;

¹ Departamento de Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-420, Brazil.

² Universidade de Pernambuco, *campus* Petrolina, Petrolina – PE, 56328-900, Brazil.

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Soja. Londrina – PR, 86001-970, Brazil.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 31270-901, Brazil.

Acknowledgments

We acknowledge the support from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE Processes: DCR-0036-2.03/21 and APQ-0266-2.03/21), and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for financial support and scholarships.

ABSTRACT

Calotropis procera (Aiton) W. T. is a xerophytic perennial shrub and an invasive exotic species well adapted to semi-arid conditions. This species has been widely studied due to its medicinal properties, ecological importance, and resistance to adverse environmental conditions. However, despite efforts, there are gaps regarding its genomic structure and evolution, which could also help to resolve the phylogeny of Apocynaceae. Aiming to fill this gap, chloroplast genomic information was acquired through high throughput sequencing (HTS). The chloroplast genome was assembled in NOVOPlasty and annotated in GeSeq. To characterize the repetitive portion, the SSRs were detected by the MISA-web, whereas highly variable regions for the genus *Calotropis* were identified by DnaSP. Subsequently, the data was compared with five other chloroplast genomes from Apocynaceae using the IRscope. To infer about the group evolution, the phylogeny was reconstructed based on 117 complete plastomes of Apocynaceae. Results show that the genome has a circular structure with a length of 165,443 bp and a GC content of 38.43%. The major single-copy (LSC, Large Single Copy), minor single-copy (SSC, Small Single Copy), and two inverted repeats (IR) regions comprise 93,624 bp, 25,789 bp, and two of 23,015 bp in length, respectively. *C. procera* plastome encodes 133 genes and has 94 SSR loci, in addition to six highly variable regions estimated for the genus (*trnK-UUU*, *matK*, *rps16*, *infA*, *ycf2*, and *psbB*). The contraction/expansion analysis between IR limits indicated that cpDNA of *C. procera* exhibits subtle variations between the J^{SB} and J^{SA} junctions concentrated in the *ycf1*, tRNAs, and rRNAs genes, which bring new information about the acquired strategies. The phylogenetic reconstruction supports a close relationship between the genera *Calotropis*, *Gomphocarpus*, and *Asclepias* within the tribe Asclepiadeae. The current classification obtained also gives high support to the monophyly of the genus *Calotropis* (*C. procera* and *C. gigantea*) in addition, helps clarifying taxonomic uncertainties regarding the genus *Hoya* and the position of subfamily Periplocoideae. Finally, our discoveries expand the genomic resources available in Apocynaceae and provide essential information about the ecological adaptation to arid environments of *Calotropis procera*.

Keywords: Comparative genome; Invasive alien species; Phylogenomics; SSRs

1. INTRODUÇÃO

As plantas que resistem a ambientes desafiadores desenvolvem características que permitem seu crescimento sob condições climáticas adversas. Tais fatores atuam por influenciar onde as populações se estabelecem e prosperam (Dos Santos et al., 2022). Um exemplo claro são as espécies exóticas invasoras, capazes de se estabelecer e expandir sua distribuição em um novo hábitat por meio de novas estratégias ecológicas e adaptativas. Como consequência, ameaçam a biodiversidade local ao competir com espécies nativas (Leão et al., 2011).

Na família Apocynaceae Juss. algumas espécies exóticas têm se tornado invasoras em diversas regiões do mundo. Na América do Sul, um desses exemplos é *Calotropis procera* (Aiton) R. Br. uma planta arbórea e/ou arbustiva, nativa de ambientes secos da África Ocidental e do Sul da Ásia (Abbassi et al., 2003; Grin, 2021). Introduzida em meados do século XIX (Lorenzi & Matos, 2002) tornou-se exótica invasora no continente com principal nucleação no bioma das Florestas Sazonalmente Secas (SDFs) (Gonçalves-Oliveira et al., 2022). Nesses ambientes a espécie é capaz de manter notável plasticidade fenotípica, entre comportamento, organização e ajustes que juntos estabelecem uma melhor resposta aos ambientes adversos (Igbal et al., 2023).

Embora os estudos anteriores tenham concentrado principalmente na sua fitofisiologia (Pompelli et al., 2019; Igbal et al., 2023; Rivas & Santos, 2023), farmacologia (Arya & Kumar, 2005; Sehgal et al., 2005) e ecologia (Shivkar & Kumar, 2003; Grace, 2006; Tabatinga-Filho, 2008; Sobrinho et al., 2013) existe uma relativa lacuna na literatura sobre as estratégias adaptativas da espécie para sobrevivência em ambientes semiáridos e áridos (Kaur et al., 2021). Além disso, a espécie tem sido incluída em estudos filogenéticos anteriores que destacam uma estreita relação dentro do gênero *Calotropis*, baseados em DNA nuclear, fragmentos de DNA cloroplastidial (cpDNA) (*matK*, *psbA-trnH*, *trnL-trnF*) e genoma cloroplastidial (plastoma) completo (Sennblad & Bremer, 2002; Fishbein et al., 2018; Antonelli et al. 2021; Wang et al., 2023), apesar de que, nenhum estudo dedicou-se a caracterização da estrutura e particularidades do plastoma de *C. procera* no contexto da sua adaptabilidade a condições climáticas adversas.

Em geral, o cloroplasto é conhecido como uma organela vital para fotossíntese, sinalização intracelular e para produção de compostos essenciais ao metabolismo e crescimento. No entanto, para além dessas atribuições estende funções relacionadas à tolerância a estresses ambientais, atuando como sensores de ambiente externo, capazes de enviar informações via sinalização retrógrada para o núcleo (Taylor et al. 2009). Isso resulta na otimização da expressão de genes nucleares impulsionados pela resposta fisiológica (Yagi & Shiina, 2014; Zhang et al., 2020). Tal organela contém seu próprio genoma, habitualmente representado por uma molécula de DNA circular (cpDNA), constituído por 120-180 Mb na grande parte das plantas superiores (Maliga, 2004). A representação quadripartida típica é composta por duas regiões de repetição invertida (IRs), separadas por uma região de cópia única menor (SSC) e uma região de cópia única maior (LSC). Nessas regiões são incluídos genes ribossomais (16S, 23S, 5S), genes tRNA (cerca de 27-31), genes para a subunidade da RNA polimerase, citocromo, genes para fotossistema I e II, além de genes ligados a síntese de ATP (Huang et al., 2013).

A estrutura e o conteúdo genético dos plastomas seja majoritariamente conservado em angiospermas (Daniell et al. 2016), entretanto, os eventos de contração e expansão das regiões do genoma compreendem informações úteis, figurando como elemento crucial para processos vitais da planta, refletindo sua organização e processos adaptativos. Em espécies extremófilas, alguns genes das famílias *ndh* (*ndhA*, *ndhH* e *ndhF*) e *ycf* demonstram uma taxa evolutiva mais alta em comparação aos de espécies de ambientes menos extremos (Chen et al., 2022). Dessa forma, a anotação dos plastomas serve como base para elucidar processos de regulação da expressão gênica e da síntese de proteínas em resposta a mudanças ambientais (Yagi & Shiina, 2014; Zhang et al., 2020).

Além disso, os eventos de contração e expansão fornecem marcadores moleculares mais informativos, úteis para análises de diversidade populacional, filogenética e filogeográfica (Doorduyn et al., 2011). Os SSRs (Sequências Simples Repetidas ou Microssatélites) identificados a partir do genoma cloroplastidial se destacam tanto pela presença de repetições do tipo mononucleotídeos, compreendendo as bases A ou T, quanto por número e ocorrência, dessa forma, são particularmente adequados como marcadores (Khan et al., 2019). Como resultado,

reconstruções com base nos plastomas resolveram diferentes incongruências filogenéticas em níveis profundos, como polifilias ou parafilias de alguns gêneros (Abba et al., 2021; Rodda & Niissalo, 2021; Rodda et al., 2020; Wang et al., 2023).

Nesse estudo, (1) apresentamos a anotação completa do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera*; (2) fornecemos detalhes de montagem contendo informações de sequências simples repetidas (SSRs); (3) identificamos as regiões cloroplastidiais altamente variáveis para o gênero *Calotropis* L.; (4) comparamos a estrutura do cpDNA recém gerado com outros dados cloroplastidiais disponíveis para a família, inferindo sobre importância funcional para espécie; e, (5) reavaliamos a filogenia de Apocynaceae com base nas sequências codificadoras de proteínas de 117 plastomas disponíveis. Com isso, nossos resultados dão suporte para o desenho de marcadores moleculares mais informativos para estudos de *Calotropis*, além de fornecer uma base teórica rica para estudos populacionais e avaliar relações filogenéticas mais amplas dentro de Apocynaceae.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Coleta do material vegetal e extração de DNA

Espécimes de *Calotropis procera* foram coletados partir de populações naturais localizadas no domínio da Caatinga (sob as coordenadas 9°04'15.6"S, 40°19'21.5"W), onde foram obtidas folhas frescas e um espécime testemunho como voucher. Em seguida, o material foi submetido a uma extração de DNA genômico total com o kit DNeasy PowerPlant Pro (QIAGEN), seguindo as instruções do fabricante. A integridade da amostra extraída foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1,5%, coradas com GelRed®. O DNA extraído foi quantificado com auxílio do fluorímetro Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific) e a qualidade da amostra foi aferida com o auxílio de espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific) a partir das razões de absorbância A260/A280 e A260/A230.

2.2. Sequenciamento, montagem e anotação do genoma cloroplastidial

O DNA extraído e purificado foi utilizado para construção das bibliotecas de sequenciamento, com auxílio do kit Nextera™ XT (Illumina, CA, EUA). Por fim, os fragmentos foram submetidos ao sequenciamento na plataforma HiSeq 2500 (Illumina, CA, EUA) paired-end (2 x 150 bp).

Os dados brutos gerados foram processados no FastQC v0.11.7 (Andrews, 2010) e filtrados utilizando Fastp (Chen et al., 2018), removendo as sequências de baixa qualidade (phred 30) e dos adaptadores. A partir disto, a montagem do genoma cloroplastidial foi realizada em duas etapas. Inicialmente, foi utilizado o script NOVOPlasty4.3.1.pl (Dierckxsens et al, 2017), definindo os parâmetros Tipo = chloro e Faixa do Genoma = 120000-200000. Como sequência de referência foi utilizado o genoma cp de *Calotropis procera* disponível no NCBI (NC_041440.1) e como Seed Input foi aplicada uma única leitura do conjunto de dados previamente mapeados para o genoma NC_041440.1. A montagem com NOVOPlasty resultou em oito contigs, que foram submetidos a uma montagem com Phrap versão 0.990319, com configurações padrão, obtendo o genoma circular completo da espécie. O genoma foi anotado utilizando o GeSeq (Tillich et al, 2017; disponível em <https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/geseq.html>). Além disso, o recurso online OGDRAW (versão v1.3.1; Greiner et al., 2019; disponível em <https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>) foi aplicado a fim de fornecer uma visualização das características do genoma cp de *C. procera*.

2.3. Detecção dos SSRs e análise de uso de códons

As sequências simples repetidas (SSRs) foram detectadas no plastoma de *C. procera* utilizando o programa online MISA (Beier et al., 2017; disponível em: <https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa>). Dentro do MISA, definimos o número mínimo de unidades repetidas para dez, cinco, quatro, três, três e três para mononucleotídeos, dinucleotídeos, trinucleotídeos, tetranucleotídeos, pentanucleotídeos e hexanucleotídeos, respectivamente (Figura 2; Tabela S1). Além disso, selecionamos genes codificadores de proteínas com pelo menos 200 pb para analisar o uso de códons no programa CodonW (version 1.4.2) (<http://codonw.sourceforge.net/>), sob configurações padrão (Figura 3; Tabela S2).

2.4. Análise da expansão e contração da Região Invertida (IR)

O genoma cloroplastidial de *C. procera* foi comparado com os plastomas de cinco espécies (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand., *Asclepias syriaca* L., *Asclepias nivea* L., *Vincetoxicum forrestii* (Schltr.) C.Y.Wu & D.Z.Li e *Vincetoxicum mongolicum* Maxim.) pertencentes à mesma família Apocynaceae (Tabela S3; dados obtidos do GenBank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e intimamente relacionadas com base na filogenia de Sennblad e Bremer (2002) a fim de identificar pontos críticos de variações genômicas. Foram visualizadas especialmente as variações entre as junções LSC/IRb/SSC/IRa dos seis cpDNA com base em suas anotações usando o IRscope (Amiryousefi et al., 2018).

Adicionalmente, foi realizada uma comparação entre o genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* recém gerado com outros recursos genômicos para o gênero, representados por *Calotropis procera* e *Calotropis gigantea* de populações de Wuhan na China (Tabela S3; dados obtidos do GenBank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) a fim de identificar os pontos críticos a partir da comparação geográfica, visualizadas com base no IRscope (Amiryousefi et al., 2018).

2.5. Diversidade de nucleotídeos

Os plastomas de *C. procera* e do grupo irmão *C. gigantea* foram alinhados com MAFFT (versão 7; Katoh et al., 2002) a fim de avaliar a diversidade de nucleotídeos para o gênero. A diversidade de nucleotídeos (Pi) foi estimada no DnaSP (DNA Sequences Polymorphism versão V6.0; Rozas et al., 2017), com algumas modificações. Definindo o tamanho de passo para 200 pb com um comprimento de janela de 600 pb (Kong et al., 2021).

2.6. Análise filogenética

Para reconstruir a filogenia de Apocynaceae, foram obtidos 117 genomas cloroplastidiais da família, abrangendo cerca de 54 gêneros e representando 4 das 5 subfamílias de Apocynaceae. Além disso, os plastomas de quatro espécies pertencentes às Ericaceae, uma família estreitamente relacionada às Apocynaceae, foram obtidos para compor o grupo externo, incluindo *Rhododendron calophytum*

Franch., *Rhododendron datiandingense* Z. J. Feng, *Rhododendron latoucheae* Franch. e *Vaccinium myrtillus* L. (Tabela S3). Totalizando 121 genomas cloroplastidiais para a reconstrução filogenética (Tabela S3).

As anotações completas (arquivo RefSeq) do cloroplasto de todos os genomas foram obtidas via GenBank, desses arquivos foram extraídas as sequências gênicas para input no SPLACE (Oliveira et al., 2022). Um arquivo contendo todos os arquivos FASTA das 121 espécies e, outro arquivo de texto contendo a informação dos genes codificadores de proteínas para concatenação foram gerados. A supermatriz gerada pelo SPLACE foi então utilizada para determinar o melhor modelo de ajuste de sequência via ModelTest-NG v0.1.7 (Darriba et al., 2020), que resultou no modelo GTR + GAMMA. Por fim, realizamos a análise filogenética com o método de máxima verossimilhança (ML) com um valor de bootstrap (BS) de 1.000 réplicas no RAxML v8.2.12 (Statakis, 2014). Os arquivos finais da árvore foram visualizados no iTOL v6 (Letunic & Bork, 2021; Disponível em: <https://itol.embl.de/#>) e editados no QGIS 3.16 (Quantum GIS Development, 2016).

3. RESULTADOS

Características gerais e organização do genoma do cloroplasto de *Calotropis procera*

O genoma cloroplastidial de *C. procera* apresenta uma estrutura circular quadripartida típica com 165.443 pb de comprimento que consiste em uma região grande de cópia única (LSC) com 93.624 pb e uma região pequena de cópia única (SSC) com 25.789 pb, separadas por um par de regiões de repetições invertidas (IRa e IRb), cada uma com 23.015 pb. O conteúdo GC total foi de 38,43% e de 37,75%, 32,45% e 45,08%, nas regiões LSC, SSC e nas duas regiões IR, respectivamente (Tabela 1).

Foram anotados 133 genes, incluindo 88 genes codificadores de proteínas (PCGs), 37 RNAs transportadores (tRNAs) e 8 RNAs ribossomais (rRNAs) (Tabela 1). Dentre os 133 genes, 82 estavam localizados no LSC, 13 no SSC enquanto 19 estavam duplicados nas regiões IR, que compreenderam cinco PCGs (*ndhB*, *rpl2*,

rpl23, *rps7*, *rps12*), sete tRNAs (*trnA*-UGC, *trnI*-CAU, *trnI*-GAU, *trnL*-CAA, *trnN*-GUU, *trnR*-ACG e *trnV*-GAC), quatro rRNAs (*rrn4.5*, *rrn5*, *rrn16* e *rrn23*) e três genes de função desconhecida (*ycf1*, *ycf2* e *ycf15*) (Figura 1, Tabela 2).

Os 133 genes incluíam 22 que continham um íntron. Destes, oito eram PCGs (*clpP*, *petB*, *petD*, *atpF*, *ndhA*, *ndhB*, *rpoC1*, *rps16*, *rpl2* e *rpl16*) e seis eram tRNAs (*trnA*-UGC, *trnG*-UCC, *trnI*-GAU, *trnK*-UUU, *trnL*-UAA e *trnV*-UAC). O único gene com dois íntrons foi o *ycf3*, além do *accD* com três íntrons (Tabela S4).

Tabela 1. Características do genoma do cloroplasto de *Calotropis procera* (Apocynaceae).

Category	Item	Characteristics of chloroplast genome
Construction of chloroplast genome	Size of chloroplast genome (bp)	165.443
	Size of LSC (pb)	93.624
	Size of SSC (pb)	25.789
	Size of IRa (pb)	23.015
	Size of IRb (pb)	23.015
Gene content	Nº of overall genes	133
	Nº of protein-coding genes	88
	Nº of tRNA genes	37
	Nº of rRNA genes	8
	Nº of duplicate genes	19
GC content	Overall GC content (%)	38.43
	GC content of LSC region (%)	37.75
	GC content of SSC region (%)	32.45
	GC content of IRa region (%)	45.08
	GC content of IRb region (%)	45.08

Figura 1. Mapa do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* (Apocynaceae). Os genes nas porções externa e interna do círculo são transcritos no sentido horário e anti-horário, respectivamente. Os genes pertencentes a diferentes grupos funcionais são codificados por cores e o círculo interno mostra suas localizações nas regiões LSC, SSC, IRa e IRb. As barras cinza-escuras no círculo interno correspondem ao conteúdo do GC.

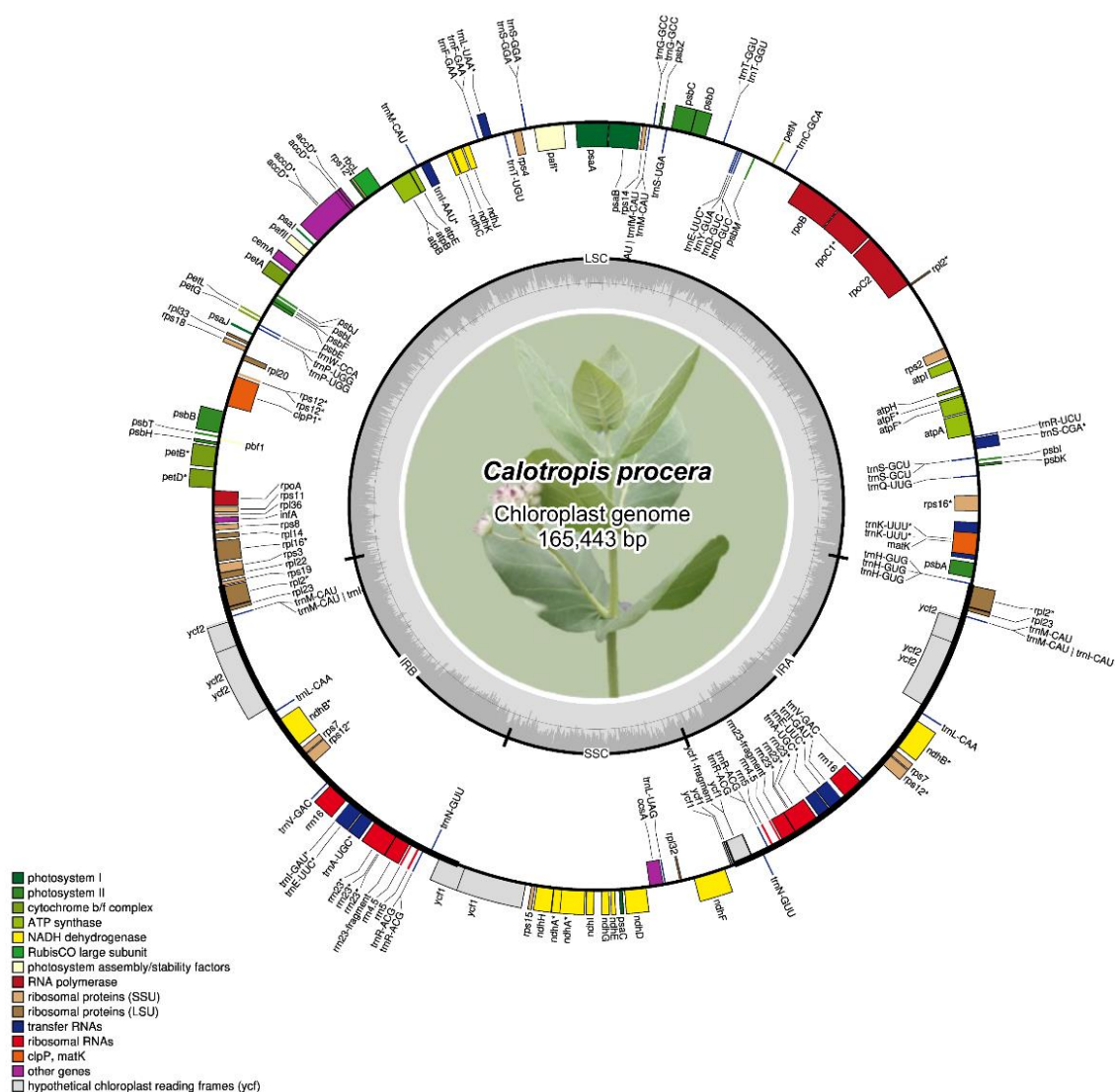


Tabela 2. Categorias funcionais para os genes presentes no genoma do cloroplasto de *Calotropis procera*.

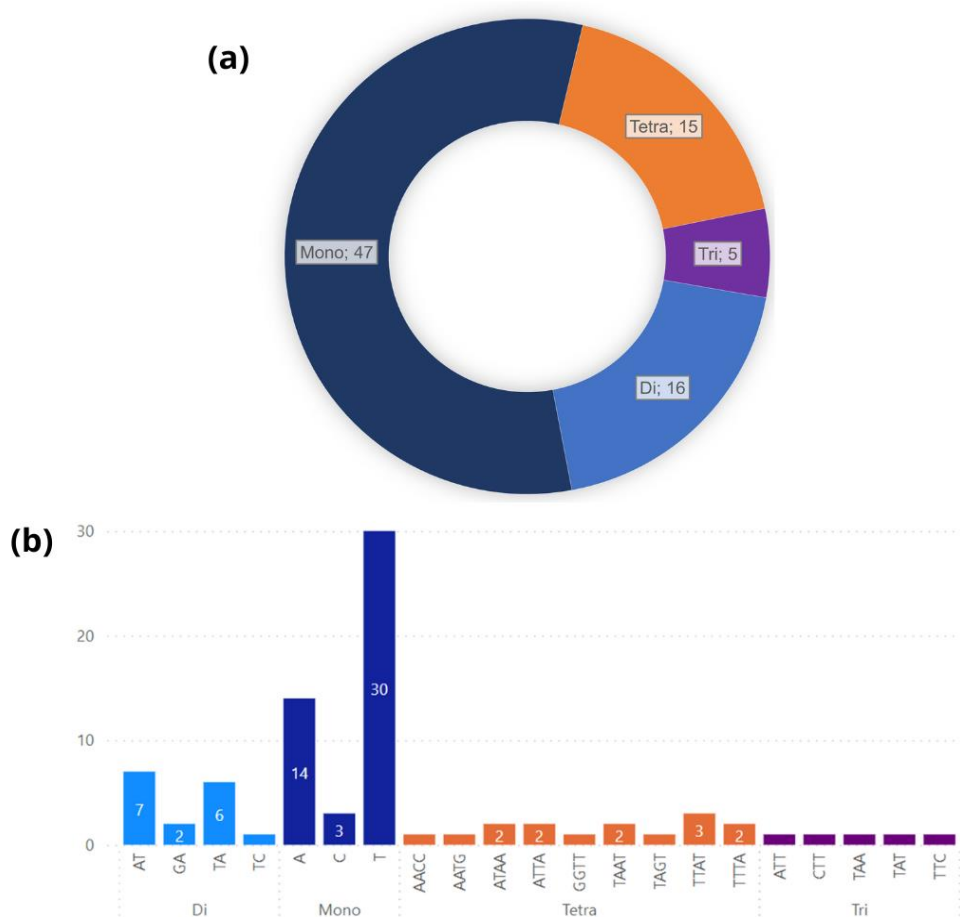
Category for genes	Group of genes	Name of genes
Genes for photosynthesis	Subunits of ATP synthase	<i>atpA, atpB, atpE, atpF, atpH, atpI</i>
	Subunits of photosystem I	<i>psaA, psaB, psaC, psal, psaJ</i>
	Subunits of photosystem II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, psbZ, ycf3.</i>
	Subunits of NADH dehydrogenase	<i>ndhA, ndhB*, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>
	Subunit of cytochrome <i>b/f</i> complex	<i>petA, petB, petD, petG, petL, petN</i>
	Subunit of rubisco	<i>rbcL</i>
Self-replication	Large subunit of ribosome	<i>rpl2 *, rpl14, rpl16, rpl20, rpl22, rpl23 *, rpl32, rpl33, rpl36</i>
	Small subunit of ribosome	<i>rps2, rps3, rps4, rps7 *, rps8, rps11, rps12 *, rps14, rps15, rps16, rps18, rps19</i>
	DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoA, rpoB, rpoC1, rpoC2</i>
	Transfer RNA genes	<i>trnA-UGC *, trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnF-GAA, trnG-GCC, trnG-UCC, trnH-GUG, trnI-CAU *, trnI-GAU *, trnK-UUU, trnL-CAA *, trnL-UAA, trnL-UAG, trnM-CAU, trnM-CAU, trnN-GUU *, trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-ACG *, trnR-UCU, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC *, trnV-UAC, trnW-CCA, trnY-GUA</i>
Other genes	Ribosomal RNA genes	<i>rrn4.5 *, rrn5 *, rrn16 *, rrn23*</i>
	Translation initiation fator	<i>infA</i>
	Subunit of acetyl-CoA carboxylase	<i>accD</i>
	c-type cytochrome synthesis gene	<i>ccsA</i>
Unkwon	Envelop membrane protein	<i>cemA</i>
	Protease	<i>clpP</i>
	Maturase	<i>matK</i>
	Conserved open reading frames	<i>ycf1 *, ycf2 *, ycf4, ycf15 *</i>

Note: (*) Duplicated genes located in the IR regions.

Análise das sequências simples repetidas (SSRs)

Foram detectados 94 loci de SSRs no genoma do cloroplasto de *Calotropis procera*, entre sete classes de SSR do tipo: SSR composto, mononucleotídeo, dinucleotídeo, trinucleotídeo, tetranucleotídeo, pentanucleotídeo e hexanucleotídeo (Tabela S1). Dentre esses, considerando abundância e variabilidade foram analisados os SSRs de quatro categorias diferentes (mono-, di-, tri-, tetranucleotídeos) (Figura 2). Dessas, foram encontrados 83 loci de SSR, entre eles o número de repetições de mono-, di-, tri-, tetranucleotídeos foi de 47, 16, 5 e 15, respectivamente (Figura 2 e Tabela S1).

Fig. 2. Microsatélites (*Simple Sequence Repeats*, SSRs) identificados no genoma cloroplastidial de *C. procera*.



A grande maioria dos SSRs compreendeu mononucleotídeos, representando 57% das regiões encontradas, as bases mais representativas são timina (T), adenina (A) seguida de citosina (C), com 30, 14 e 3 regiões de microssatélite encontradas com cada base (Figura 2). Não foram encontradas regiões repetidas de guanina. Enquanto que para SSRs do tipo dinucleotídeo as bases mais representativas foram AT e TA com 7 e 6 ocorrências. Para as repetições do tipo tetranucleotídeo observou-se um maior número de combinações presentes poucas vezes no genoma, compreendendo as bases, ATAA, TTAT, TAAT, ATTA e TTAT entre 2 a 3 vezes. Por fim, as cinco regiões de trinucleotídeos foram identificadas com uma ocorrência cada (Figura 2).

Análise do uso de códons

A análise do uso de códons indicou que os 88 genes codificadores de proteínas do plastoma de *C. procera* compreendiam 25.841 códons, representando 20 aminoácidos mais o códon de parada. Além disso, foram identificados 31 códons degenerados com valores de uso relativo de códons sinônimos (RSCU) acima de um, indicando seu viés de utilização no plastoma. Em particular, o códon AGA que codifica a arginina teve o viés de uso mais alto, com um valor de 1.92, seguido do UUA que codifica a leucina com um viés de utilização de 1.85. De modo geral, todos os outros códons com valores RSCU acima de 1,0 terminaram com A ou U, exceto o códon UUG que codifica para leucina (Figura 3 e Tabela S2).

Análise da diversidade de nucleotídeos

A análise para detectar sítios polimórficos entre espécies do gênero *Calotropis* (*C. procera* e *C. gigantea*) indicou que o valor médio da diversidade de nucleotídeos (Pi) foi 0,0057 (Figura 4). Foram detectadas um total de seis regiões altamente variáveis são elas: *trnK*-UUU, *matK*, *rps16*, *infA*, *ycf2* e *psbB* (Figura 4). Todas as regiões variáveis encontradas estão localizadas na região LSC. Não foram identificadas regiões altamente variáveis com $P_i > 0,012$ na região SSC e nem nas regiões IR.

Fig. 3. Detalhes dos vieses de uso de códons no plastoma de *Calotropis procera*. As barras (codificadas por cores) representam os valores relativos de utilização de códons sinônimos para cada tipo de aminoácido.

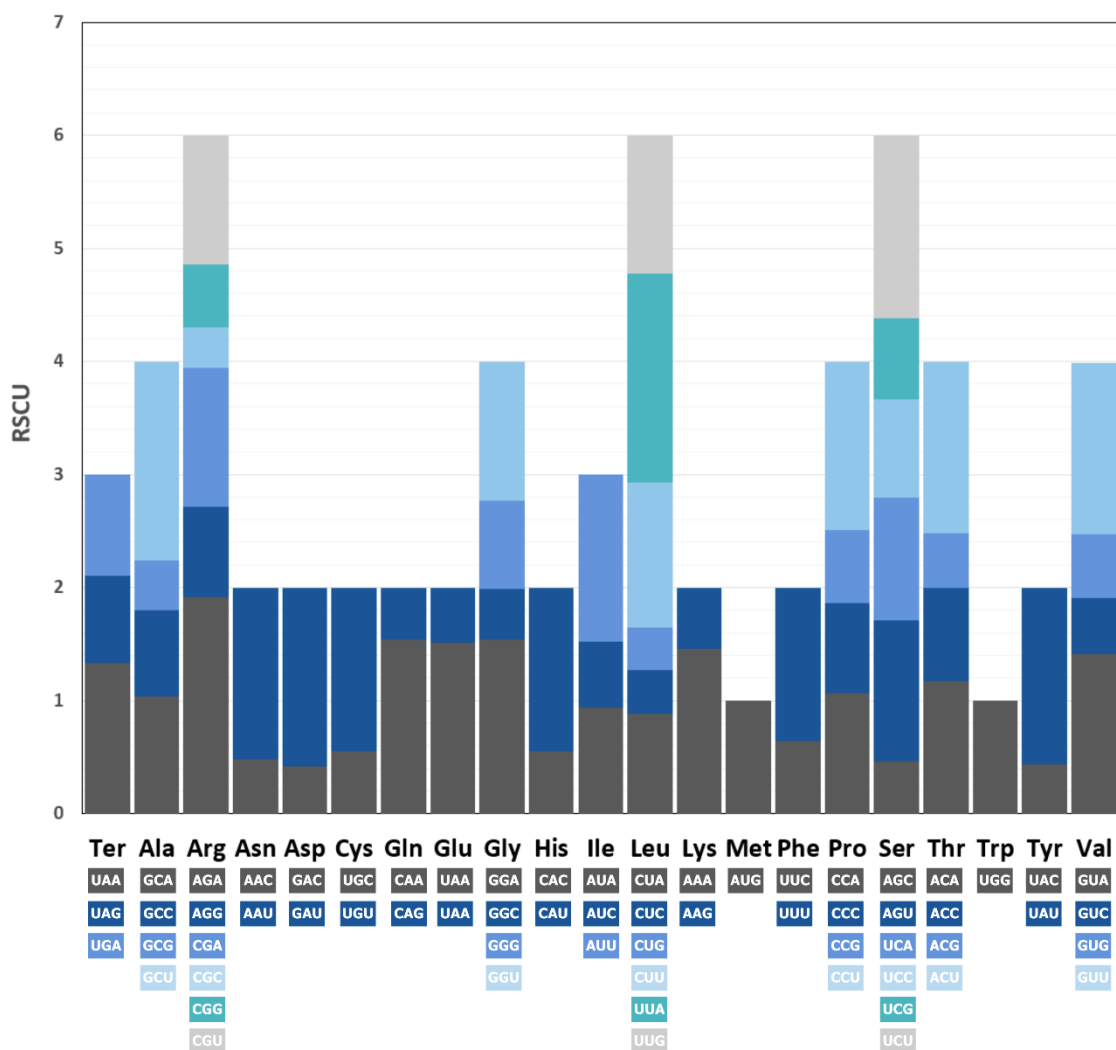
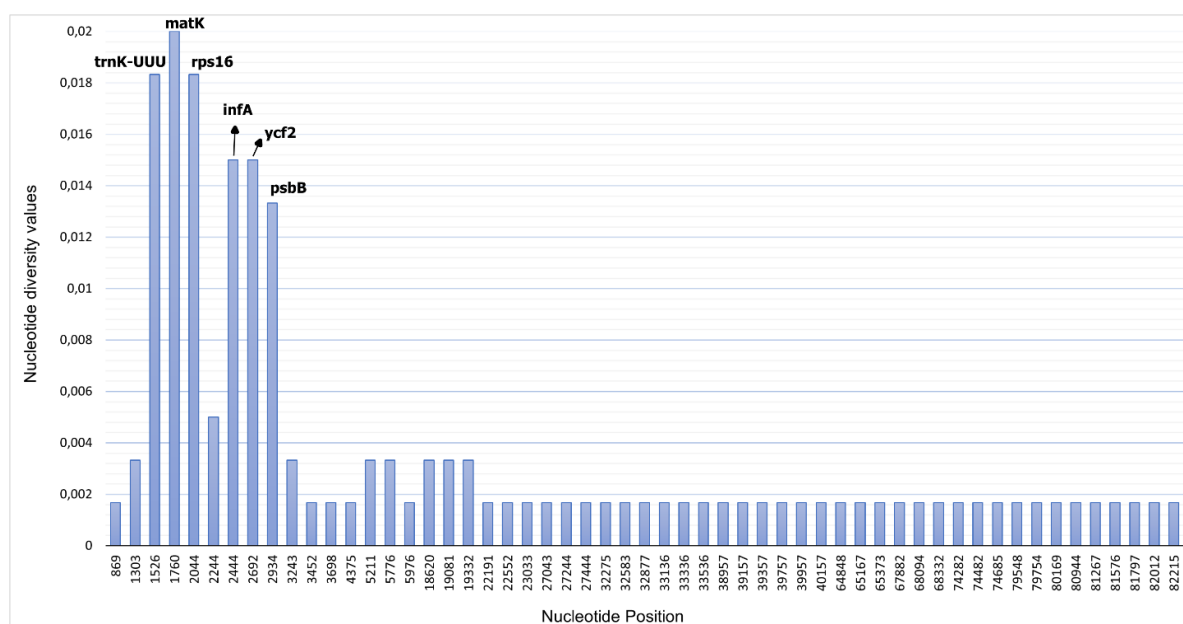


Fig. 4. Análise da diversidade de nucleotídeos (Pi) baseada nos genomas cp de *Calotropis procera* e *C. gigantea* (Apocynaceae) com um tamanho de janela deslizante de 600 pb e um tamanho de passo de 200 pb. O eixo X mostra as posições dos nucleotídeos, enquanto o eixo Y representa os valores de diversidade de nucleotídeos.



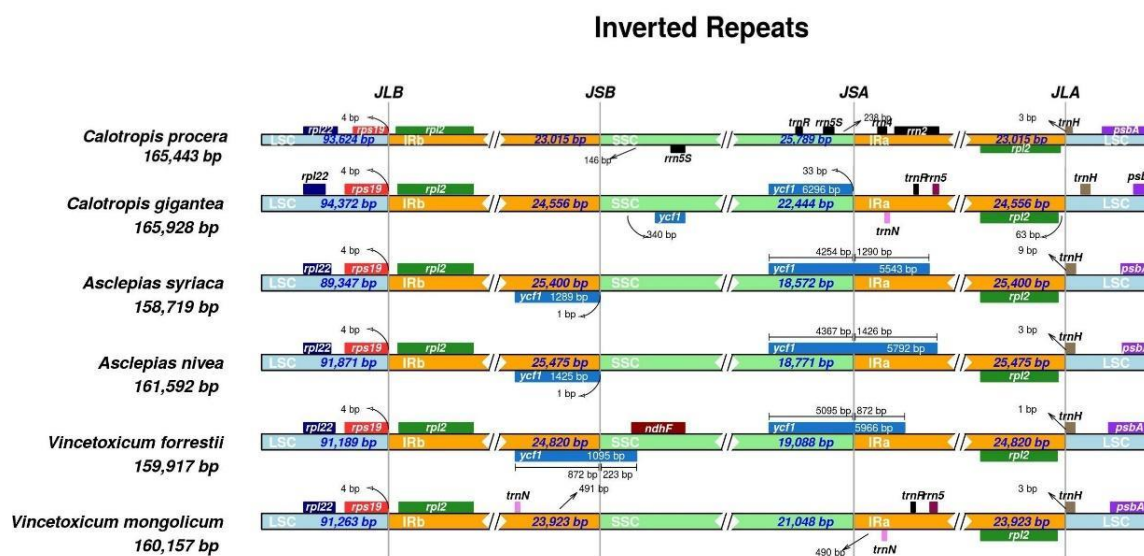
Análise da expansão e contração das regiões IR

A análise comparativa do genoma cloroplastidial de *C. procera* com o plastoma completo de outras cinco espécies pertencentes à família Apocynaceae, indicou que todos os táxons tinham números semelhantes de PCGs, mas algumas variações de tRNAs e rRNAs bem como posições semelhantes das regiões de limite entre as quatro junções IRa/LSC (J^{LA}), IRb/LSC (J^{LB}), IRa/SSC (J^{SA}) e IRb/SSC (J^{SB}) (Figura 5).

No entanto, apesar da alta similaridade entre os genomas, algumas expansões e/ou contrações entre os limites foram observadas (Figura 5). Como o gene *ycf1* localizando entre as junções J^{SB} e J^{SA} em *Calotropis gigantea*, *Asclepias syriaca*, *Asclepias nivea* e *Vincetoxicum forrestii*, com localização quase exata entre os representantes do gênero *Asclepias*, enquanto que uma ligeira variação em *C. gigantea* com 340 bp em SSC e *V. forrestii* com 872 bp em IRb e 223 bp em SSC.

Além disso, o mesmo gene está ausente entre os limites das quatro junções em *C. procera* e em *V. mongolicum*.

Fig. 5. Análise dos limites entre LSC/IRB/SSC/IRA e de genes adjacentes anotados entre seis genomas cloroplastidiais de Apocynaceae. Legenda das abreviações: JLB: região de limite entre LSC e IRB; JSB: linha de limite entre IRB e SSC; JSA: linha de limite entre SSC e IRA; JLA: linha de limite entre IRA e LSC.

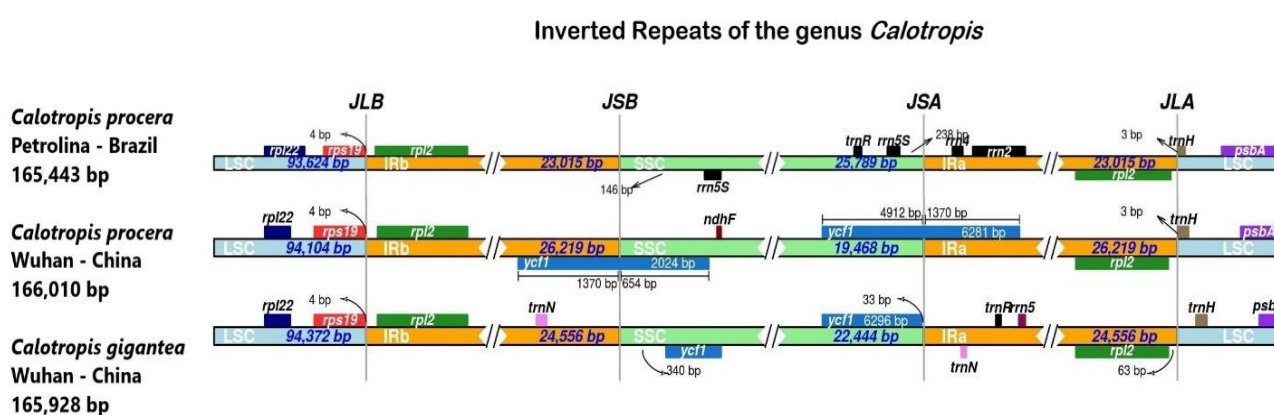


Em situação semelhante, o gene *rpl2* e o *trnH* apresentam certa variação entre as espécies ao longo da junção J^{LA}, apenas em *C. gigantea* o *trnH* não cruza a junção J^{LA}, enquanto o gene *rpl2* mantém 63 bp em IRa. Em todas as outras espécies, o *trnH* apresenta um padrão ultrapassando entre 1-3 bp para IRa e em *A. syriaca* 9 bp. Nas junções J^{LB}, os genes *rpl22*, *rps19* e *rpl2* mantém o mesmo padrão em todas as espécies.

Dentro do gênero *Calotropis*, nossa análise dos limites LSC/IRB/SSC/IRA do gênero, em comparação com as populações *C. procera* de Petrolina no Brasil e *C. procera* e *C. gigantea* de Wuhan na China, revelou uma relativa conservação (Figura 6). As variações no tamanho total do genoma entre as três amostras são sutis, com *C. procera* de Petrolina apresentando um genoma cloroplastidial ligeiramente menor que o da mesma espécie de Wuhan, com 166.010 pb, e o de *C. gigantea*, com 165.928

pb. Além disso, a população de Petrolina destaca-se por apresentar a maior região SSC com 25.789 pb, apresentando um maior número de tRNAs e rRNAs especialmente entre a junção J^{SA} com a presença do *trnR*, *rrn5S*, *rrn4* e *rrn2*, ocupando 146 e 238 bp ao longo da região SSC.

Fig. 6. Análise dos limites entre LSC/IRB/SSC/IRA e de genes adjacentes anotados entre genomas cloroplastidiais do gênero *Calotropis*. Legenda das abreviações: JLB: região de limite entre LSC e IRB; JSB: linha de limite entre IRB e SSC; JSA: linha de limite entre SSC e IRA; JLA: linha de limite entre IRA e LSC.



Relações filogenéticas

A filogenia gerada a partir dos 117 plastomas de Apocynaceae, resultou em uma árvore com espinha dorsal bem suportada em todos os nós principais, representando quatro subfamílias (Periplocoideae, Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae) com ausência apenas da subfamília Secamonoideae para a qual ainda não há dados disponíveis. Além disso, os dados abrangem 22 tribos (Aspidospermateae, Alstonieae, Willughbeieae, Tabernaemontaneae, Vinceae, Alstonieae, Melodineae, Hunterieae, Amsonieae, Plumerieae, Carisseae, Wrightieae, Nerieae, Malouetieae, Odontademiaceae, Echiteae, Mesechiteae, Apocynaceae, Fockeeae, Asclepiadeae, Ceropegieae e Marsdenieae) dentre as 27 reconhecidas para a família, com ausência de dados para as tribos Rhabdadenieae, Baisseeae, Eustegieae, Alyxieae e Secamoneae. A espécie *Hemidesmus indicus* R. Br. aparece

como o táxon basal, enquanto a primeira linhagem divergente posiciona-se dentro da subfamília Periplocoideae, ao passo que *Hoya silvatica* Tsiang & P.T.Li figura como a mais derivada dentro da subfamília Asclepiadoideae (Figura 7A e 7B).

Os clados basais que se divergem de maneira sucessiva correspondem aos parafiléticos, com um representante da subfamília Periplocoideae e os clados da subfamília Rauvolfioideae (Figura 7A). Dentro de Rauvolfioideae, a tribo mais basal Aspidospermateae apesar de não ser monoespecífica apresenta em nossa análise uma única espécie amostrada, sendo o mesmo posicionado no clado da tribo mais derivada Carisseae, tratando-se da tribo irmã do clado da subfamília Apocynoideae (Figura 7A). Além dessas, Willughbeieae, Melodineae e Hunterieae também representam tribos com uma única espécie amostrada cada (Figura 7A).

Fig. 7A. Árvore filogenética reconstruída por análise de máxima verossimilhança (ML) com base em 88 sequências codificadoras de proteínas (CDS) de 117 espécies de Apocynaceae e dois grupos externos. Os números próximos aos ramos são porcentagens de suporte bootstrap (BS) obtidas a partir da inferência de máxima verossimilhança. O nós com BS = 100% estão sendo demonstrados com asteriscos.

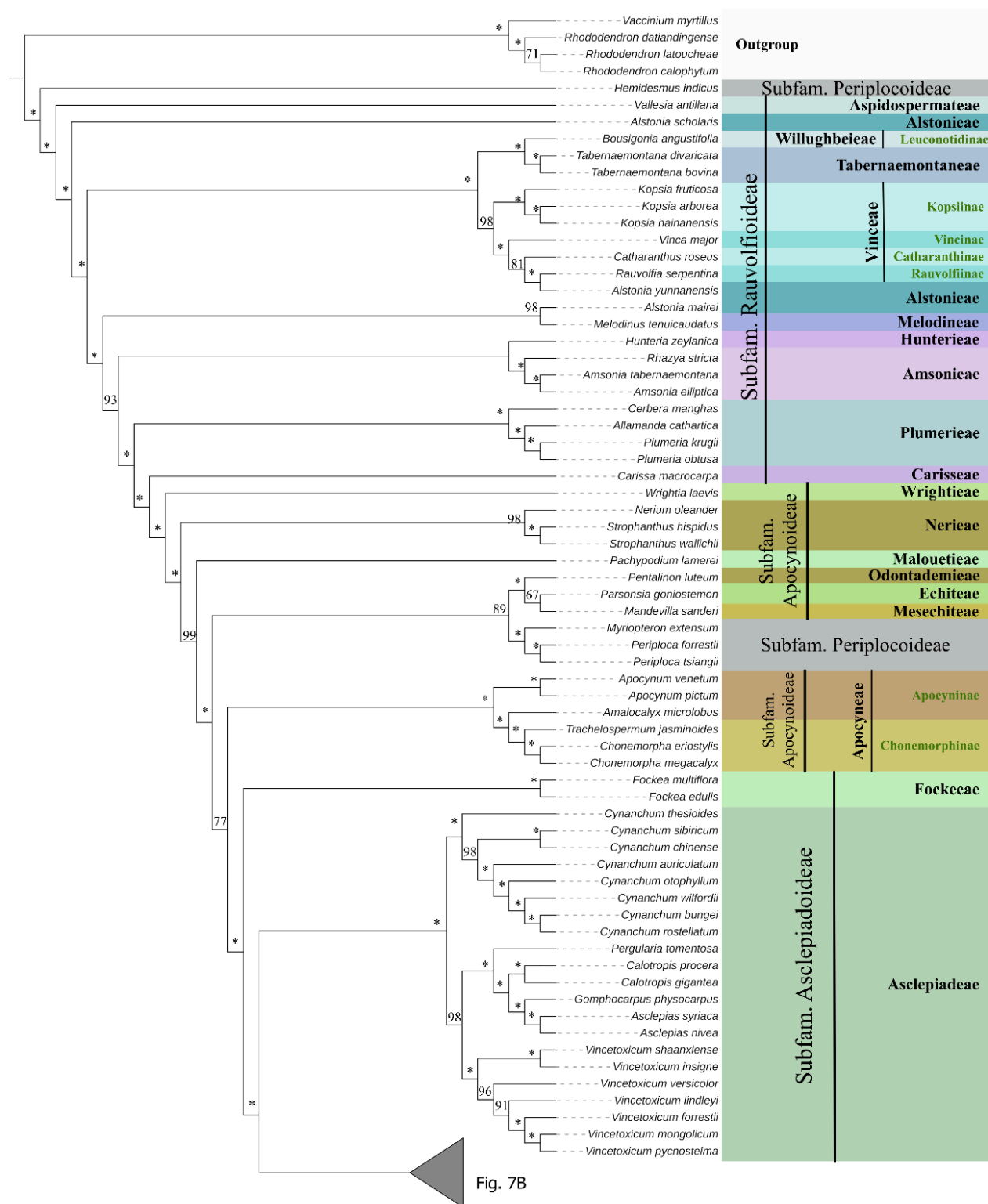
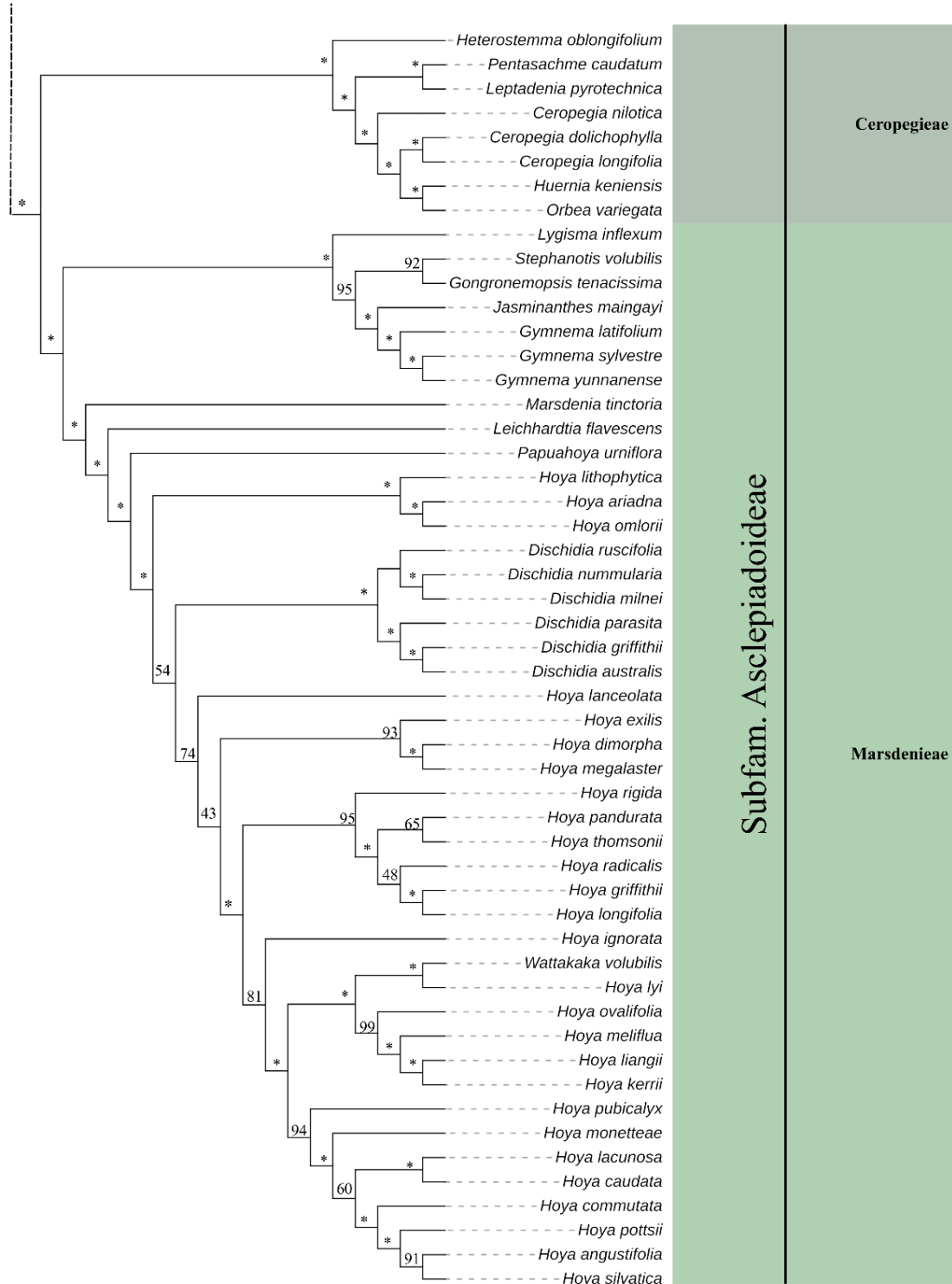


Fig. 7B. Continuação - Árvore filogenética reconstruída por análise de máxima verossimilhança (ML) com base em 88 sequências codificadoras de proteínas (CDS) de 117 espécies de Apocynaceae e dois grupos externos. Os números próximos aos ramos são porcentagens de suporte bootstrap (BS) obtidas a partir da inferência de máxima verossimilhança. O nós com BS = 100% estão sendo demonstrados com asteriscos.

Fig. 7A



Dentre as onze tribos de Rauvolfioideae, as subtribos Vinceae e Alstonieae mostraram-se como monofiléticas (Figura 7A). Por sua vez, Vinceae são parafiléticas uma vez que *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz. (única espécie amostrada para a subtribo Rauvolfiinae) é considerada espécie-irmã de *Alstonia yunnanensis* Diels, pertencente à tribo Alstonieae (Figura 7A). As tribos citadas, junto com as demais subtribos, formam um clado bem suportado em Vinceae (BS: 98). Por outro lado, Alstonieae é considerada polifilética por formar um clado mais basal com *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. (BS: 100).

Dentro da árvore a monofilia das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae e Asclepiadoideae é bem suportada (Figura 7A). A subfamília Apocynoideae compreende 11 clados, com a subfamília Periplocoideae compondo um deles (BS: 89), sendo Periplocoideae irmã do clado que inclui as subtribos irmãs Odontadenieae, Echiteae e Mesechiteae. Além disso, em Apocynoideae, as Wrightieae e Malouetieae representam tribos com um táxon amostrado (Figura 7A).

A proximidade filogenética entre as subfamílias Apocynoideae e Asclepiadoideae é bem suportada (BS:100; Figura 7A). Inclusive com as relações entre as quatro tribos amostradas dos clados das Asclepiadoideae consideradas como bem resolvidas, incluindo o clado das Asclepiadeae com bom suporte (BS: 100), onde Ceropegieae figura como irmã de Marsdenieae e Fockeeae sendo irmãs do restante das Asclepiadoideae (Figura 7A e 7B). Em Asclepiadeae a classificação atual obtida suporta uma relação estreita entre os gêneros *Calotropis*, *Gomphocarpus* e *Asclepias* (Figura 7A). Além do alto suporte atribuído à monofilia do gênero *Calotropis* (*C. procera* e *C. gigantea*) (BS: 100), bem como a integridade e separação das espécies em duas linhagens. Entretanto, na tribo Marsdenieae apesar do alto suporte entre os clados, algumas relações – como no caso do gênero não monofilético *Hoya* R.Br. – ainda permanecem não resolvidas (Figura 7B).

4. DISCUSSÃO

4.1 Comparações de tamanho, estrutura de plastomas e pontos de divergência de sequência

O processamento das sequências de *Calotropis procera* resultou em um plastoma de 156,80 Mb, ou seja, semelhante ao encontrado na espécie irmã *C. gigantea* (157,28 Mb) e relativamente menor ao relatado em *Vinca minor* L. e *Voacanga thouarsii* Roem. & Schult. com 679,10 e 1,351.26 Mb respectivamente, sendo o último considerado o maior genoma cloroplastidial disponível para Apocynaceae (Cuello et al., 2022). Após a anotação, assim como acontece na maioria das angiospermas, o plastoma de *C. procera* exibiu uma estrutura circular quadripartida consistente com o observado em outras espécies da família Apocynaceae que também exibem uma organização semelhante (Bautista et al., 2020; Li et al., 2020; Abba et al., 2021; Zheng et al., 2022).

Nos plastomas em específico, embora as IRs sejam mais conservadas, os eventos de contração e expansão entre os limites são vistos de forma comum e representam as principais razões para a variação de tamanho dos genomas cloroplastidiais (Goulding et al., 1996; Wang et al., 2008; Qian et al., 2013). Por exemplo, embora o gene *ycf15* possa estar ausente em algumas Apocynaceae e em outras ordens (Shi et al., 2013; Du et al., 2020; Zheng et al., 2022), o mesmo gene *ycf15* além de outros representantes do complexo (*ycf1* e *ycf2*) estão presentes no genoma de *C. procera* e são frequentemente encontrados em outras Apocynaceae (Li et al., 2020; Liao et al., 2020; Liu et al., 2023).

O conteúdo GC geral do genoma de *C. procera* é comparável aos encontrados em outros cloroplastos de Apocynaceae (Bautista et al., 2020; Abba et al., 2021; Zheng et al., 2022). Por exemplo, em *Apocynum pictum* Schrenk o conteúdo foi de 38,3% (Zheng et al., 2022), *Wrightia laevis* Hook. f. foi de 38,05% (Li et al., 2020), *Apocynum venetum* L. com 38,3% (Guo et al., 2022), *Duvalia velutina* Lavranos com 37,9%, enquanto *Gomphocarpus siniacus* Boiss apresentou 38% (Alzahrani et al., 2024). Assim como no presente trabalho, em Apocynaceae o conteúdo GC nas regiões de cópia única é relativamente menor do que nas regiões de repetição invertida (Alzahrani et al., 2024). Essa discrepância entre conteúdo por região é

atribuída à presença de oito genes de rRNA nas regiões de repetição invertida, os quais são reconhecidamente ricos em conteúdo GC (Xue et al., 2019).

No que diz respeito ao conteúdo gênico, valores semelhantes ao reportado em *C. procera* (Tabela 2) também são encontrados em *Vincetoxicum mongolicum*, *Wrightia laevis*, *Catharanthus roseus* (L.) G. Don e *Cerbera manghas* L. (Ku et al., 2013; Li et al., 2020; Liao et al., 2020; Liu et al., 2023). A conservação da estrutura genômica e do conteúdo gênico em *C. procera* e em outras Apocynaceae indicam um alto grau de conservação evolutiva, bem como um provável processo de evolução recente no grupo.

Além desses achados, a presença de 22 genes contendo pelo menos um íntron em *C. procera* (Tabela S4), incluindo genes importantes como *clpP*, *petB*, *petD*, e *rpoC1*, reflete um padrão entre angiospermas (Shinozaki et al., 1986; Qian et al., 2013). Por sua vez, genes com múltiplos íntrons, como *ycf3* e *accD*, também são comuns (Tabela S4). O gene *ycf3* integra parte essencial na montagem do complexo fotossistema I (Boudreau et al., 1997; Nellaepalli et al., 2018), assim múltiplos íntrons são necessários para o correto funcionamento do processo. Enquanto que o *accD* que codifica para a subunidade β -carboxiltransferase da acetil-CoA carboxilase, é vital para a síntese de ácidos graxos e para manutenção de processos metabólicos no cloroplasto (Caroca et al., 2021). Dessa forma, ambos os genes desempenham papéis críticos na regulação da expressão gênica e na manutenção da funcionalidade do cloroplasto (Li et al., 2018).

No genoma cloroplastidial de *C. procera* foram identificados 94 loci de SSRs distribuídos em sete categorias. Dentre esses, 83 loci de SSRs foram analisados em detalhe (Figura 3). A abundância dos SSRs do tipo mononucleotídeos excedeu a de di- e trinucleotídeos, incluindo 57% das regiões identificadas, com timina (T) e adenina (A) sendo as bases mais frequentes (Figura 3). Este padrão é consistente com os achados em Apocynaceae (Ku et al., 2013; Abba et al., 2021) sendo comum devido à alta prevalência de pares de bases A-T na maioria dos genomas de plantas. Os dinucleotídeos AT e TA também foram predominantes (Figura 3), o que é esperado, dado que repetições A/T são frequentemente mais comuns em regiões não codificantes dos genomas cloroplastidiais, possivelmente devido à menor estabilidade das interações comparativamente aos segmentos ricos em G-C (Chen et al., 2000).

O mesmo padrão também foi observado em espécies de Apocynaceae, onde dinucleotídeos AT/TA predominam nas regiões intergênicas dos genomas cloroplastidiais (Ku et al., 2013; Liao et al., 2020; Abba et al., 2021; Liu et al., 2023). Apesar de SSRs do tipo pentanucleotídeos e hexanucleotídeos terem sido identificados no plastoma de *C. procera* (Tabela S1), assim como em outras espécies de Apocynaceae, como *Asclepias syriaca* L. e *Perguleria tomentosa* L. (Abba et al., 2021, 2020), os achados não são potencialmente relevantes uma vez que SSRs em unidades menores, principalmente mononucleotídeos, tendem a ser mais polimórficos, portanto, de maior interesse para estudos comparativos (Cohen et al., 2004).

Além disso, ao analisar o uso de códons, identificamos um total de 31 códons degenerados com valores de uso relativo de códons sinônimos (RSCU) acima de um (Figura 3), este viés de uso de códons desempenha papel crucial na formação da expressão genética e função celular (Xiong et al., 2020). Considera-se que o RSCU seja o resultado de processos como deriva genética, seleção natural e mutação (Zheng et al., 2022). Em particular, os aminoácidos Metionina e Triptofano foram os menos representados no plastoma de *C. procera*, esse padrão também foi observado no plastoma de *Caralluma quadrangula* (Forssk) N. E.Br (Apocynaceae) (Abba et al., 2021), bem como representantes de outras famílias, como *Physalis macrophysa* Rydb. e *Physalis ixocarpa* L. (Solanaceae) (Zhang et al., 2023). Em geral, o cpDNA de *C. procera* apresentou valores de uso relativo acima de um para os códons terminados em A ou U. Esse viés de utilização, onde códons terminados em A ou U são preferencialmente utilizados, é comum em genomas cloroplastidiais, refletindo possivelmente a seleção por maior eficiência de tradução e estabilidade do mRNA (Parvathy et al., 2022).

A análise da diversidade de nucleotídeos do gênero *Calotropis* (*C. procera* e *C. gigantea*) identificou cinco regiões altamente variáveis (Figura 4), em decorrência do viés de divergência tais regiões são potencialmente indicadas como marcadores moleculares. Tais regiões estão localizadas na LSC do genoma cloroplastidial, enquanto que é vista uma ausência de regiões altamente variáveis na SSC e IR (Figura 1). Esses achados indicam uma menor taxa de mutação e maior conservação na SSC e IR, atribuídas à presença de genes essenciais e de duplicações nas regiões

IR, que aumentam a pressão seletiva. De modo geral, genes duplicados nas IR são cruciais para a estabilidade estrutural do genoma cloroplastidial e para a regulação da expressão gênica (Blazier et al., 2016).

4.2 Regiões do genoma e potencial importância funcional para a espécie

Apesar da estrutura do genoma cloroplastidial ser em sua maioria estável ao longo das famílias, o tamanho e as regiões do genoma podem variar devido a contrações, expansões ou mesmo perda completa de genes, especialmente no que tange às regiões de repetição invertida (IR), ainda que sejam as mais conservadas do plastoma (Yaradua et al., 2019; Henriquez et al., 2020). Em angiospermas são descritas quatro regiões de limite entre IRa/LSC (J^{LA}), IRb/LSC (J^{LB}), IRa/SSC (J^{SA}) e IRb/SSC (J^{SB}) nas quais se observam alterações no tamanho e na localização dos genes típicos dessas regiões, resultando em variações nos tamanhos totais dos genomas (Wang et al., 2022).

Na família Apocynaceae são relatadas variações entre as quatro regiões limite, por exemplo, no gênero *Caralluma* onde diferenças de tamanho são vistas entre o limite J^{SA} e J^{SB} (Abba et al., 2021), em *Gymnema* e *Duvalia*, as variações mais significativas são observadas em J^{SB} . Por sua vez, em *Gomphocarpus* tais flutuações estão localizadas entre J^{LB} e J^{SA} (Alzahrani et al., 2024). Com base nessas variações, em Apocynaceae são descritos seis tipos de combinação e diferentes subtipos de limites IR (Wang et al., 2023). Dessa forma, esses achados sustentam a aplicação das IRs como polimorfismos relevantes, eficazes para avaliar reorganizações conformacionais dentro dos genomas cloroplastidiais.

Nossa análise comparativa das regiões IR (Figura 4) indica que apesar de todos os táxons terem uma organização relativamente conservada, algumas variações de PCGs, tRNAs e rRNAs, principalmente localizadas entres as junções J^{SA} de *C. procera* são vistas. Nessas regiões, o gene *ycf1* está ausente entre os limites em *C. procera* e em *Vincetoxicum mongolicum* (Figura 4; Liu et al., 2023). A ausência do gene também é documentada entre os limites de outras Apocynaceae (Liu et al., 2023), embora a presença massiva (Rodda & Niissalo, 2021; Zheng et al., 2022;

Zhang et al., 2023; Alzahrani et al., 2024) e pseudogenização (Abba et al., 2021; Guo et al., 2022; Zheng et al., 2022) sejam igualmente relatadas.

O *ycf1* é conhecido por sua alta variabilidade em termos de tamanho e sequência entre diferentes espécies de plantas, o gene é codificado pelo plastoma de dicotiledôneas e algas verdes, estando ausente nas gramíneas (Rochaix, 2022). Integra o quadro de leitura hipotética do cloroplasto (*ycf*) um grupo de genes que desempenha papel importante na montagem do complexo clorofila-proteína da cadeia de transporte de elétrons conhecidos como fotossistemas I e II, correspondentes aos agrupamentos de moléculas de clorofila e pigmentos acessórios (Rochaix 2011; Moreira, 2013; Dai et al., 2024; Levin, 2024).

Como um dos genes mais longos do plastoma, o *ycf1* codifica uma proteína de 1.800 aminoácidos (Dong et al., 2015). Embora este gene esteja presente na SSC do genoma de *C. procera* (Figura 1), o mesmo está ausente entre os limites IR, o que revela uma translocação dos limites IR para a SSC (Figura 4). Na literatura é relatado que em plantas com flores as duas regiões do gene *ycf1* são altamente variáveis, com diferenças substanciais entre os vários tipos de genomas cloroplastidiais (Dong et al., 2012; Bölder & Soll, 2017). Em algumas espécies o gene é encontrado em regiões IR/SSC e IR/LSC, mas compõem pseudogenes devido à falta de duplicações completas (Abba et al., 2021; Zheng et al., 2022). Ao passo que também se observou que o *ycf1*, tal como outros genes típicos das IRs, foram translocados para a região LSC ou SSC, demonstrando uma reorganização genômica significativa (Guo et al., 2022; Alzahrani et al., 2024).

A identificação da localização do gene *ycf1* pode fornecer novos conhecimentos quanto ao entendimento de um genoma cloroplastidial. Ilustrando alterações na estrutura do genoma que podem indicar eventos evolutivos significativos, incluindo adaptações específicas a ambientes ou pressões seletivas. O que pode ser justificado pelo fato de ambas espécies *C. procera* e *V. mongolicum* serem nativas de áreas semelhantes na China e Mongólia (Ma et al., 2007). Nessas regiões, *V. mongolicum* é considerada como uma das plantas indicadoras de desertificação em regiões áridas ou semiáridas (Wang et al., 2022).

Além dessas particularidades no plastoma de *C. procera*, ressalta-se também a presença abundante de sítios de tRNA e rRNA entre a junção J^{SA}, como evidenciado

na comparação entre as populações de Petrolina - Brasil e Wuhan - China (Figura 6). Essas variações observadas podem refletir processos relacionados às condições ambientais locais, como no município de Petrolina, localizado no bioma das Florestas Sazonalmente Secas (SDFs), especificamente no Domínio Morfoclimático da Caatinga. Nesses ambientes, a flora da região é moldada por processos ecológicos e evolutivos que culminam em um sistema dinâmico e heterogêneo, onde variações de clima e solo influenciam as adaptações das espécies vegetais (Araújo et al., 2022).

Nessas condições, as variações encontradas podem assegurar que a planta mantenha uma síntese proteica eficiente uma vez que tRNAs são fundamentais para a tradução eficiente de mRNAs em proteínas (Mohanta et al., 2019), enquanto que rRNAs são componentes essenciais dos ribossomos, responsáveis pela síntese proteica (Fox, 2010). Tais processos são vitais para a sobrevivência em condições de altas temperaturas, incidência solar e escassez de hídrica, como as encontradas no Domínio da Caatinga.

Dessa forma, a eficiência na síntese proteica, mesmo em ambientes de estresse, pode ter sido um fator determinante para o sucesso de *C. procera* em habitats áridos e semiáridos, contribuindo para sua ampla distribuição geográfica. Outra hipótese é de que essa característica seja resultado do processo de invasão da espécie. Em tais ambientes extremos, onde os recursos podem ser limitados e as condições podem mudar rapidamente, a eficiência e a robustez na tradução são cruciais para a sobrevivência e adaptação das espécies (Zhang et al., 2020).

4.3 Análises filogenéticas em Apocynaceae

Os genomas dos cloroplastos provaram ser úteis em análises filogenéticas e na sistemática molecular evolutiva. Em trabalhos anteriores diferentes abordagens foram aplicadas, a fim de resolver incongruências filogenéticas na família, seja com base em genomas nucleares e plastomas parciais (Rodda et al., 2020; Antonelli et al. 2021) ou plastomas inteiros e até mesmo reconstruções somente baseadas em genes específicos (Sennblad & Bremer, 2002; Fishbein et al., 2018; Wang et al., 2023). Entre elas a abordagem de reconstrução baseada em genomas completos, combinadas com a utilização dos genes codificadores de proteínas compartilhados são capazes

de reconstruir e fornecer uma compreensão mais clara das relações evolutivas em nós profundos (Hohmann et al., 2014).

Considerando o exposto, o presente trabalho inclui o plastoma completo de 117 espécies de Apocynaceae disponíveis atualmente, capaz de recuperar uma árvore bem suportada com topologia contendo algumas semelhanças com as recuperadas anteriormente (Fishbein et al, 2018; Wang et al., 2023). Na árvore obtida (Figura 7A e 7B) vários nós semelhantes receberam forte suporte de acordo com o visto antes; no entanto, algumas variações consistentes entre as árvores foram observadas e merecem destaque.

Relações no gênero *Calotropis* - em *Calotropis* R. Br. a filogenia suporta uma relação estreita com os gêneros *Asclepias* L. e *Gomphocarpus* L. e os agruparam na tribo Asclepiadeae (Figura 7A). A relação irmã entre *C. procera* e *C. gigantea* contém alto suporte atribuindo a monofilia do grupo (BS: 100), tais resultados são consistentes com trabalhos anteriores usando outras abordagens (Fishbein et al, 2018; Wang et al., 2023) e sugerem que as duas espécies compartilham um ancestral comum exclusivo.

Morfológicamente, as espécies podem ser facilmente confundidas por meio de características semelhantes como o látex leitoso e a estrutura das flores, diferindo-se pelo comprimento e pelo tamanho de folhas e caules (Crothers & Newbound, 1998; Verma, 2014). Além dessas semelhanças, as espécies ainda apresentam compatibilidade nos seus perfis químicos (Srivastava et al., 2015). Adicionalmente, a distribuição geográfica das espécies sugere uma origem comum, com padrões biogeográficos históricos de dispersão e vicariância corroborando a monofilia do grupo (Endress & Bruyns, 2000). Entretanto, estudos genéticos populacionais suportam a separação entre duas espécies distintas (Muriira et al., 2018).

Posição das Periplocoideae - Apesar da utilização de múltiplos loci, os quais fornecem inferências filogenéticas mais robustas (Fishbein et al., 2018) uma incongruência foi observada na subfamília Periplocoideae com duas fortes aparições, primeiro como um clado basal e outra representando um grupo monofilético dentro da subfamília Apocynoideae (Figura 7A). Para discutir de forma abrangente o aparecimento de Periplocoideae como um clado basal e sua representação

monofilética, se faz crucial aprofundar aspectos da análise filogenética, da biologia evolutiva e das características específicas na família.

Apesar da variação entre a filogenia aqui reconstruída e trabalhos anteriores, uma íntima relação entre Periplocoideae e Apocynoideae foi observada em estudos anteriores (Livshultz et al., 2007; Livshultz 2010; Fishbein et al., 2018; Wang et al., 2023). Inicialmente com base em caracteres florais de presença de ausência de polínia (Endress & Bruyns 2000; Fishbein 2001; Endress 2004) e posteriormente resultados filogenéticos (Fishbein et al., 2018; Wang et al., 2023) foram capazes de sustentar a hipótese de que as Periplocoideae possam representar um estágio intermediário em meio a uma transição de caracteres típicos de Apocynoideae e Asclepiadoideae (Wyatt et al., 2000).

No entanto, para além dessa evidência, características morfológicas e anatômicas, como as diferenças na distribuição dos vasos do caule, a ocorrência de traqueídes e a distribuição do parênquima axial entre as trepadeiras Apocynoides e Periplocoides (e, por extensão, também todo o clado da coroa trepadeira) agregam uma maior importância filogenética para reconstruções dentro de Apocynaceae; uma vez que fornecem evidências para o posicionamento de Periplocoideae dentro do clado basal da família (Verhoeven & Venter, 1998; Endress & Bruyns, 2000; Venter & Verhoeven, 2001).

Neste sentido, a reconstrução da árvore filogenética atual foi capaz de mostrar uma relação consistente (BS:100) em que todas as 117 espécies de Apocynaceae aqui amostradas são monofiléticas com a subfamília Periplocoideae e com a espécie *Hemidesmus indicus* L. alocada como a primeira linhagem divergente (Figura 7A). O mesmo achado é observado em estudos recentes, um deles com uma amostragem menor, mas que inclui o gênero *Hemidesmus*, o qual foi capaz de reconstruir uma árvore em que os plastomas de espécies de Apocynaceae distribuídas entre as subfamílias Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae, eram monofiléticas com Periplocoideae (Zheng et al., 2022).

Tais fatos podem ser atribuídos a eventos históricos de hibridização, responsáveis por confundir os limites entre linhagens evolutivas distintas, resultando em táxons que parecem basais em algumas análises e mais derivados em outras. Isto foi documentado em várias famílias de plantas, incluindo Apocynaceae, onde o fluxo

gênico entre linhagens tem sido considerado como uma força evolutiva significativa (Livshultz et al., 2018). Desse modo, a origem híbrida de Periplocoideae, com um evento de hibridização remota, não pode ser descartado em estudos posteriores que enderecem o tema.

Gênero não monofilético – Apesar da filogenia atual incluir uma amostragem limitada para alguns gêneros, para o gênero *Hoya* um número maior de representantes foi obtido, capazes de suportar a parafilia do grupo (Figura 7B). O gênero pertence à tribo Marsdenieae, grupo que tem sido um ponto intrigante na literatura, devido a polifilia e parafilia de alguns gêneros, como *Marsdenia* e *Hoya* (Rodda et al., 2020). Em *Hoya* trabalhos recentes sustentam o gênero como parafilético (Rodda et al., 2020; Rodda & Niissalo, 2021; Wang et al., 2023).

Aqui, a filogenia foi capaz de separar *Hoya* em dois clados principais (Figura 7B), sendo que o clado menor incluiu as espécies *H. lithophytica*, *H. ariadna* e *H. omlorii*, anteriormente classificados no gênero *Clemensiella* Schltr. (Meve et al. 2009). Em contrapartida observa-se um segundo clado maior que compreende os principais clados estabelecidos em Rodda e Niissalo (2021), classificados como *Hoya* s.s. Em geral, as relações filogenéticas dentro de *Hoya* têm sido ambíguas, principalmente devido à baixa amostragem de alguns clados e a má resolução infragenérica (Rodda et al., 2020; Rodda & Niissalo, 2021)

No entanto, nossos achados são condizentes com estudos anteriores, os quais atestam a monofilia do gênero *Dischidia* e agrupam o clado menor de *Hoya* (*Clemensiella*) em separado (Rodda et al., 2020; Rodda & Niissalo, 2021). Morfologicamente o grupo *Clemensiella* é bastante diferente do restante dos clados do grupo *Hoya*, apresentam particularidades nos ramos, retináculo e polínias as quais se apresentam em formas diferentes e maiores (Rodda & Niissalo, 2021). Assim, nossos achados dão suporte a filogenias anteriormente reconstruídas, as quais também apoiam *Clemensiella* como um gênero distinto (BS = 100; Figura 7B). Dessa forma, recomenda-se que *Clemensiella* deva ser tratado como um grupo separado em nível genérico ou subgenérico, de acordo com os suportes aqui apresentados.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo, apresentamos a primeira anotação do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* e o comparamos de forma abrangente com outras 116 espécies de Apocynaceae. Os resultados apresentados, indicaram que o plastoma de *C. procera* é altamente conservado dentre as Apocynaceae, embora apresente variações significativas, especialmente no gene *ycf1*. A translocação desse gene para a região SSC e a presença muitos sítios de tRNAs e rRNAs indicam uma reorganização genômica que favorece a eficiência fotossintética em condições adversas, como as da Caatinga. As diferenças observadas na amostra de Petrolina em comparação com Wuhan ressaltam a importância de adaptações para a sobrevivência em climas extremos. Essas alterações genômicas refletem mecanismos adaptativos essenciais, permitindo uma ampla distribuição geográfica da espécie.

A análise filogenética baseada em cloroplastos inteiros forneceu forte apoio para o posicionamento de *C. procera* como irmã de *C. gigantea*, em posição de grande proximidade. Ainda, suporta uma relação estreita entre os gêneros *Calotropis*, *Gomphocarpus* e *Asclepias*, agrupados na tribo Asclepiadeae, oferecendo uma contribuição significativa para a compreensão das relações evolutivas dentro de Apocynaceae e entre *Calotropis procera* dentro da família.

Para os demais gêneros de Apocynaceae, a filogenia suporta dois posicionamentos distintos e bem suportados para o gênero *Hoya*, sustentando a parafilia do grupo. Ainda, em decorrência do forte suporte filogenético, recomenda-se que o clado menor (*Clemensiella*) deva ser tratado como um grupo separado em nível genérico ou subgenérico. Adicionalmente, novas implicações filogenéticas destacaram duas ocorrências importantes da subfamília Periplocoideae: primeiro como um clado basal e, em seguida, como um grupo monofilético dentro da subfamília Apocynoideae. Portanto, eventos históricos de hibridização não podem ser descartados em estudos com a subfamília.

Dada a importância da espécie, seu potencial invasivo e adaptabilidade a ambientes semiáridos, o nosso trabalho contribui para lançar luz ao potencial de adaptação da espécie em ambientes adversos, abrindo caminho para trabalhos futuros que busquem avaliar a diversidade genética e as adaptações ecológicas que permitem que *C. procera* prospere em ambientes extremos.

6. REFERÊNCIAS

- Abba, A., Alzahrani, D., Yaradua, S. and Albokhari, E., 2021. Comparative chloroplast genome analysis and evolutionary relationships in some species of Asclepiadeae, Apocynaceae. *Legume Research-An International Journal*, 44(2), pp.145-151.
- Abba, A., Alzahrani, D., Yaradua, S. and Albokhari, E.B., 2020. Complete plastome genome of *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadoideae, Apocynaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), pp.566-567.
- Abba, A., Alzahrani, D.A., Yaradua, S.S. and Albokhari, E.J., 2021. Complete chloroplast genome sequencing of *Caralluma quadrangula* and comparative analysis of the Asclepiadoideae subfamily (Apocynaceae). *Journal of Applied Botany & Food Quality*, 94.
- Abbassi, K., Atay-Kadiri, Z. and Ghaout, S., 2003. Biological effects of alkaloids extracted from three plants of Moroccan arid areas on the desert locust. *Physiological Entomology*, 28(3), pp.232-236.
- Alzahrani, D.A., Abba, A., Yaradua, S.S. and Albokhari, E.J., 2024. An insight on the complete chloroplast genome of *Gomphocarpus siniacus* and *Duvalia velutina*, Asclepiadoideae (Apocynaceae). *Brazilian Journal of Biology*, 84, p.e257145.
- Amiryousefi, A., Hyvönen, J. and Poczar, P., 2018. IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes. *Bioinformatics*, 34(17), pp.3030-3031.
- Andrews, S., 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
- Antonelli, A., Clarkson, J.J., Kainulainen, K., Maurin, O., Brewer, G.E., Davis, A.P., Epiawalage, N., Goyder, D.J., Livshultz, T., Persson, C. and Pokorny, L., 2021. Settling a family feud: A high-level phylogenomic framework for the Gentianales based on 353 nuclear genes and partial plastomes. *American Journal of Botany*, 108(7), pp.1143-1165.
- Araujo, H.F., Garda, A.A., e Silva, W.A.D.G., Do Nascimento, N.F.F., de Freitas Mariano, E. and Da Silva, J.M.C., 2022. The Caatinga region is a system and not an aggregate. *Journal of Arid Environments*, 203, p.104778.
- Arya, S. and Kumar, V.L., 2005. Antiinflammatory efficacy of extracts of latex of *Calotropis procera* against different mediators of inflammation. *Mediators of inflammation*, 2005(4), pp.228-232.
- Asaf, S., Khan, A.L., Khan, A. and Al-Harrasi, A., 2020. Unraveling the chloroplast genomes of two prosopis species to identify its genomic information, comparative analyses and phylogenetic relationship. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), p.3280.
- Bautista, M.A.C., Xiao, Z., Zheng, Y., Miao, S., Deng, Y. and Chen, T., 2020. Characterization of the complete chloroplast genome of *Apocynum venetum* L.(Apocynaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(3), pp.2475-2476.
- Beier, S., Thiel, T., Münch, T., Scholz, U. and Mascher, M., 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction. *Bioinformatics*, 33(16), pp.2583-2585.
- Bölter, B. and Soll, J., 2017. Ycf1/Tic214 is not essential for the accumulation of plastid proteins. *Molecular plant*, 10(1), pp.219-221.
- Blazier, J.C., Jansen, R.K., Mower, J.P., Govindu, M., Zhang, J., Weng, M.L. and Ruhlman, T.A., 2016. Variable presence of the inverted repeat and plastome stability in *Erodium*. *Annals of Botany*, 117(7), pp.1209-1220.
- Boudreau, E., Takahashi, Y., Lemieux, C., Turmel, M. and Rochaix, J.D., 1997. The chloroplast *ycf3* and *ycf4* open reading frames of *Chlamydomonas reinhardtii* are required for the accumulation of the photosystem I complex. *The EMBO journal*, 16, pp.6095-6104.

- Caroca, R., Howell, K.A., Malinova, I., Burgos, A., Tiller, N., Pellizzer, T., Annunziata, M.G., Hasse, C., Ruf, S., Karcher, D. and Bock, R., 2021. Knockdown of the plastid-encoded acetyl-CoA carboxylase gene uncovers functions in metabolism and development. *Plant Physiology*, 185(3), pp.1091-1110.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y. and Gu, J., 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17), pp.i884-i890.
- Chen, X., McDowell, J.A., Kierzek, R., Krugh, T.R. and Turner, D.H., 2000. Nuclear magnetic resonance spectroscopy and molecular modeling reveal that different hydrogen bonding patterns are possible for G-U pairs: One hydrogen bond for each G- U pair in r (GGC GU GCC) 2 and two for each G-U pair in r (GAG UG CUC) 2. *Biochemistry*, 39(30), pp.8970-8982.
- Cohen, H., Danin-Poleg, Y., Cohen, C.J., Sprecher, E., Darvasi, A. and Kashi, Y., 2004. Mono-nucleotide repeats (MNRs): a neglected polymorphism for generating high density genetic maps in silico. *Human genetics*, 115, pp.213-220.
- Crothiers, M.; Newbound, S. 1998. Rubber bush. Agnote F64, Northern Territory Department of Primary Industries and Fisheries. Darwin, NT.
- Cuello, C., Stander, E.A., Jansen, H.J., Dugé de Bernonville, T., Lanoue, A., Giglioli-Guivarc'h, N., Papon, N., Dirks, R.P., Jensen, M.K., O'Connor, S.E. and Besseau, S., 2022. Genome assembly of the medicinal plant *voacanga thouarsii*. *Genome Biology and Evolution*, 14(11), p.evac158.
- Dai, G.Z., Song, W.Y., Xu, H.F., Tu, M., Yu, C., Li, Z.K., Shang, J.L., Jin, C.L., Ding, C.S., Zuo, L.Z. and Liu, Y.R., 2024. Hypothetical chloroplast reading frame 51 encodes a photosystem I assembly factor in cyanobacteria. *The Plant Cell*, 36(5), pp.1844-1867.
- Daniell, H., Lin, C.S., Yu, M. and Chang, W.J., 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome biology*, 17, pp.1-29.
- Darriba, D., Posada, D., Kozlov, A.M., Stamatakis, A., Morel, B. and Flouri, T., 2020. ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular biology and evolution*, 37(1), pp.291-294.
- Dierckxsens, N., Mardulyn, P. and Smits, G., 2017. NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data. *Nucleic acids research*, 45(4), pp.e18-e18.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L. and Zhou, S., 2012. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PloS one*, 7(4), p.e35071.
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J. and Zhou, S., 2015. ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific reports*, 5(1), pp.1-5.
- Doorduyn, L.E., Gravendeel, B.A., Lammers, Y.O., Ariyurek, Y.A., Chin-A-Woeng, T.H., Vrieling, K.L., 2011. The complete chloroplast genome of 17 individuals of pest species *Jacobaea vulgaris*: SNPs, microsatellites and barcoding markers for population and phylogenetic studies. *DNA research*. 18(2), pp. 93-105.
- Dos Santos, T.B., Ribas, A.F., de Souza, S.G.H., Budzinski, I.G.F. and Domingues, D.S., 2022. Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: a review. *Stresses*, 2(1), pp.113-135.
- Du, X., Zeng, T., Feng, Q., Hu, L., Luo, X., Weng, Q., He, J. and Zhu, B., 2020. The complete chloroplast genome sequence of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) and its phylogenetic relationship to other Brassicaceae species. *Gene*, 731, p.144340.
- Endress, M.E. and Bruyns, P.V., 2000. A revised classification of the Apocynaceae sl. *The Botanical Review*, 66, pp.1-56.
- Endress, M.E., 2004. Apocynaceae: Brown and now. *Telopea*, 10(2), pp.525-541.
- Fishbein, M., 2001. Evolutionary innovation and diversification in the flowers of Asclepiadaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, pp.603-623.
- Fishbein, M., Livshultz, T., Straub, S.C., Simões, A.O., Boutte, J., McDonnell, A. and Foote, A., 2018. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new

- perspectives on growth forms, flowers, and fruits. *American Journal of Botany*, 105(3), pp.495-513.
- Fox, G.E., 2010. Origin and evolution of the ribosome. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(9), p.a003483.
- Gonçalves-Oliveira, R.C., Rodrigues, H.B. and Benko-Iseppon, A.M., 2022. Range distribution of the invasive alien species *Calotropis procera* in South America dry environments under climatic change scenarios. *Journal of Arid Environments*, 205, p.104819.
- Goulding, S.E., Wolfe, K.H., Olmstead, R.G. and Morden, C.W., 1996. Ebb and flow of the chloroplast inverted repeat. *Molecular and General Genetics MGG*, 252, pp.195-206.
- Greiner, S., Lehwark, P. and Bock, R., 2019. OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3. 1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic acids research*, 47(W1), pp.W59-W64.
- Grin. 2021. Plant Germplasm: Taxonomy. Available at: <http://www.tn-grin.nat.tn/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=8653>. (accessed 6 march 2024).
- Guo, X., Wang, Z., Cai, D., Song, L. and Bai, J., 2022. The chloroplast genome sequence and phylogenetic analysis of *Apocynum venetum* L. *Plos one*, 17(3), p.e0261710.
- Hallick, R.B., Hong, L., Drager, R.G., Favreau, M.R., Monfort, A., Orsat, B., Spielmann, A. and Stutz, E., 1993. Complete sequence of *Euglena gracilis* chloroplast DNA. *Nucleic Acids Research*, 21(15), pp.3537-3544.
- Henriquez, C.L., Ahmed, I., Carlsen, M.M., Zuluaga, A., Croat, T.B. and McKain, M.R., 2020. Evolutionary dynamics of chloroplast genomes in subfamily Aroideae (Araceae). *Genomics*, 112(3), pp.2349-2360.
- Hohmann, N., Schmickl, R., Chiang, T.Y., Lučanová, M., Kolář, F., Marhold, K. and Koch, M.A., 2014. Taming the wild: resolving the gene pools of non-model *Arabidopsis* lineages. *BMC evolutionary biology*, 14, pp.1-21.
- Huang, W.P., Sun, H., Deng, T., Razafimandimbison, S.G., Nie, Z.L. and Wen, J., 2013. Molecular phylogenetics and biogeography of the eastern Asian–eastern North American disjunct *Mitchella* and its close relative *Damnacanthus* (Rubiaceae, Mitchelleae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(2), pp.395-412.
- Iqbal, U., Hameed, M. and Ahmad, F., 2023. Structural and functional traits underlying the capacity of *Calotropis procera* to face different stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 203, p.107992.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K.I. and Miyata, T., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, 30(14), pp.3059-3066.
- Kaur, A., Batish, D.R., Kaur, S. and Chauhan, B.S., 2021. An overview of the characteristics and potential of *Calotropis procera* from botanical, ecological, and economic perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 12, p.690806.
- Khan, A., Asaf, S., Khan, A.L., Khan, A., Al-Harrasi, A., Al-Sudairy, O., AbdulKareem, N.M., Al-Saady, N. and Al-Rawahi, A., 2019. Complete chloroplast genomes of medicinally important *Teucrium* species and comparative analyses with related species from Lamiaceae. *PeerJ*, 7, p.e7260.
- Kong, B.L.H., Park, H.S., Lau, T.W.D., Lin, Z., Yang, T.J. and Shaw, P.C., 2021. Comparative analysis and phylogenetic investigation of Hong Kong *Ilex* chloroplast genomes. *Scientific Reports*, 11(1), p.5153.
- Ku, C., Chung, W.C., Chen, L.L. and Kuo, C.H., 2013. The complete plastid genome sequence of Madagascar periwinkle *Catharanthus roseus* (L.) G. Don: plastid genome evolution, molecular marker identification, and phylogenetic implications in asterids. *PLoS One*, 8(6), p.e68518.
- Leal, I.R., Silva, J.D., Tabarelli, M. and Lacher Jr, T.E., 2005. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. *Megadiversidade*, 1(1), pp.139-146.

- Leão, T.C.C., Almeida, W.R., Dechoum, M. and Ziller, S.R., 2011. Espécies Exóticas Invasoras no Nordeste do Brasil: Contextualização. *Manejo e Políticas Públicas. Recife: Cepan*.
- Letunic, I. and Bork, P., 2021. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic acids research*, 49(W1), pp.W293-W296.
- Levin, G., 2024. New kid on the photosynthetic block: *Ycf51* is a photosystem I assembly factor in cyanobacteria.
- Li, J., Su, Y. and Wang, T., 2018. The repeat sequences and elevated substitution rates of the chloroplast *accD* gene in cupressophytes. *Frontiers in plant science*, 9, p.356885.
- Li, L.M., Fu, J.X. and Song, X.Q., 2020. Complete plastome sequence of *Wrightia laevis* Hook. f. a dyestuff species. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(3), pp.2533-2534.
- Liao, M., Wei, X.F., Ding, H.P. and Tang, G.D., 2020. The complete chloroplast genome of the highly poisonous plant *Cerbera manghas* L. (Apocynaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(3), pp.3084-3085.
- Liu, W., Wang, Z., Tian, Y. and Ji, B., 2023. The complete chloroplast genome sequence of *Vincetoxicum mongolicum* (Apocynaceae), a perennial medicinal herb. *Genetics and molecular biology*, 46, p.e20220303.
- Livshultz, T., 2010. The phylogenetic position of milkweeds (Apocynaceae subfamilies Secamonoideae and Asclepiadoideae): evidence from the nucleus and chloroplast. *Taxon*, 59(4), pp.1016-1030.
- Livshultz, T., Middleton, D.J., Endress, M.E. and Williams, J.K., 2007. Phylogeny of Apocynoideae and the Apsa clade (Apocynaceae SL) 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94(2), pp.324-359.
- Livshultz, T., Middleton, D.J., van der Ham, R.W. and Khew, G., 2018. Generic delimitation in Apocynaceae (Apocynaceae). *Taxon*, 67(2), pp.341-358.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.D.A., Cavalleiro, A.D.S., Brochini, V.F. and Souza, V.C., 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Instituto Plantarum, Nova Odessa: *Jardim Botânico Plantarum*, p.80-81.
- Ma, D.Z., Liu, H.L. and Hu, F.X., 2007. *Flora of Ningxia (in Chinese)* (ed. Ma, F.). Ningxia people's Publishing House, pp. 0–635.
- Maliga, P., 2004. Plastid transformation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, pp.289-313.
- Meve, U., Laurente, O., Alejandro, G.J. and Livshultz, T., 2009. Systematics of *Clemensiella* (Apocynaceae–Asclepiadoideae). *Edinburgh Journal of Botany*, 66(3), pp.447-457.
- Mohanta, T.K., Khan, A.L., Hashem, A., Allah, E.F.A., Yadav, D. and Al-Harrasi, A., 2019. Genomic and evolutionary aspects of chloroplast *tRNA* in monocot plants. *BMC Plant Biology*, 19, pp.1-24.
- Moreira, C., 2013. Fotossíntese. *Revista de Ciência Elementar*, 1(1).
- Nellaepalli, S., Ozawa, S.I., Kuroda, H. and Takahashi, Y., 2018. The photosystem I assembly apparatus consisting of Ycf3–Y3IP1 and Ycf4 modules. *Nature communications*, 9(1), p.2439.
- Oliveira, R.R., Vasconcelos, S. and Oliveira, G., 2022. SPLACE: A tool to automatically SPLit, Align, and Concatenate genes for phylogenomic inference of several organisms. *Frontiers in Bioinformatics*, 2, p.1074802.
- Parvathy, S.T., Udayasuriyan, V. and Bhadana, V., 2022. Codon usage bias. *Molecular biology reports*, 49(1), pp.539-565.
- Pompelli, M.F., Mendes, K.R., Ramos, M.V., Santos, J.N., Youssef, D.T., Pereira, J.D., Endres, L., Jarma-Orozco, A., Solano-Gomes, R., Jarma-Arroyo, B. and Silva, A.L., 2019. Mesophyll thickness and sclerophyll among *Calotropis procera* morphotypes reveal water-saved adaptation to environments. *Journal of Arid Land*, 11, pp.795-810.
- Qian, J., Song, J., Gao, H., Zhu, Y., Xu, J., Pang, X., Yao, H., Sun, C., Li, X.E., Li, C. and Liu, J., 2013. The complete chloroplast genome sequence of the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza*. *PloS one*, 8(2), p.e57607.

- Rivas, R. and Santos, M.G., 2023. The desert plant *Calotropis procera* maintains C3 photosynthetic metabolism under salt stress. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 35(1), pp.1-16.
- Rochaix, J.D., 2011. Assembly of the photosynthetic apparatus. *Plant physiology*, 155(4), pp.1493-1500.
- Rochaix, J.D., 2022. Chloroplast protein import machinery and quality control. *The FEBS journal*, 289(22), pp.6908-6918.
- Rodda, M. and Niissalo, M.A., 2021. Plastome evolution and organisation in the *Hoya* group (Apocynaceae). *Scientific Reports*, 11(1), p.14520.
- Rodda, M., Simonsson, N., Ercole, E., Khew, G., Niissalo, M., Rahayu, S. and Livshultz, T., 2020. Phylogenetic studies in the *Hoya* group (Apocynaceae, Marsdenieae): the position of *Anatropanthus* and *Oreosparte*. *Willdenowia*, 50(1), pp.119-138.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E. and Sánchez-Gracia, A., 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, 34(12), pp.3299-3302.
- Sehgal, R., Arya, S. and Kumar, V.L., 2005. Inhibitory effect of extracts of latex of *Calotropis procera* against *Candida albicans*: A preliminary study. *Indian Journal of pharmacology*, 37(5), pp.334-335.
- Sennblad, B. and Bremer, B., 2002. Classification of Apocynaceae s. 1. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. *Systematic biology*, 51(3), pp.389-409.
- Shi, C., Liu, Y., Huang, H., Xia, E.H., Zhang, H.B. and Gao, L.Z., 2013. Contradiction between plastid gene transcription and function due to complex posttranscriptional splicing: an exemplary study of *ycf15* function and evolution in angiosperms. *PLoS One*, 8(3), p.e59620.
- Shinozaki, K., Ohme, M., Tanaka, M., Wakasugi, T., Hayashida, N., Matsubayasha, T., Zaita, N., Chunwongse, J., Obokata, J., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Ohto, C., 1986. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome. *Plant Molecular Biology Reporter*, 4, pp.111-148.
- Srivastava, S., Singh, A.P. and Rawat, A.K.S., 2015. Comparative botanical and phytochemical evaluation of *Calotropis procera* Linn. and *Calotropis gigantea* Linn. Root. *Journal of applied Pharmaceutical science*, 5(07), pp.041-047.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), pp.1312-1313.
- Taylor, N.L., Tan, Y.F., Jacoby, R.P. and Millar, A.H., 2009. Abiotic environmental stress induced changes in the *Arabidopsis thaliana* chloroplast, mitochondria and peroxisome proteomes. *Journal of proteomics*, 72(3), pp.367-378.
- Tillich, M., Lehwark, P., Pellizzer, T., Ulbricht-Jones, E.S., Fischer, A., Bock, R. and Greiner, S., 2017. GeSeq—versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic acids research*, 45(W1), pp.W6-W11.
- Venter, H.J.T. and Verhoeven, R.L., 2001. Diversity and relationships within the Periplocoideae (Apocynaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, pp.550-568.
- Verhoeven, R.L. and Venter, H.J., 1998. Pollinium structure in Periplocoideae (Apocynaceae). *Grana*, 37(1), pp.1-14.
- Verma, V.N., 2014. The chemical study of *Calotropis*. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 1, pp.74-90.
- Wang, R., Tao, L., Lu, Q., Hao, F., Zhao, S., Ma, Y., Han, L. and Bai, C., 2022. The analgesic activities of total alkaloids of the ethnic medicine *Cynanchum komarovii* Al. Iljinski. *Journal of Ethnopharmacology*, 285, p.114861.
- Wang, R.J., Cheng, C.L., Chang, C.C., Wu, C.L., Su, T.M. and Chaw, S.M., 2008. Dynamics and evolution of the inverted repeat-large single copy junctions in the chloroplast genomes of monocots. *BMC evolutionary biology*, 8, pp.1-14.

- Wang, X., Dorjee, T., Chen, Y., Gao, F. and Zhou, Y., 2022. The complete chloroplast genome sequencing analysis revealed an unusual IRs reduction in three species of subfamily Zygophylloideae. *PLoS One*, 17(2), p.e0263253.
- Wang, Y., Zhang, C.F., Odago, W.O., Jiang, H., Yang, J.X., Hu, G.W. and Wang, Q.F., 2023. Evolution of 101 Apocynaceae plastomes and phylogenetic implications. *Molecular phylogenetics and evolution*, 180, p.107688.
- Wang, Z., Gerstein, M. and Snyder, M., 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature reviews genetics*, 10(1), pp.57-63.
- Wyatt, R., Broyles, S.B. and Lipow, S.R., 2000. Pollen-ovule ratios in milkweeds (Asclepiadaceae): an exception that probes the rule. *Systematic Botany*, 25(2), pp.171-180.
- Xiong, Y., Xiong, Y., He, J., Yu, Q., Zhao, J., Lei, X., Dong, Z., Yang, J., Peng, Y., Zhang, X. and Ma, X., 2020. The complete chloroplast genome of two important annual clover species, *Trifolium alexandrinum* and *T. resupinatum*: Genome structure, comparative analyses and phylogenetic relationships with relatives in Leguminosae. *Plants*, 9(4), p.478.
- Xue, S., Shi, T., Luo, W., Ni, X., Iqbal, S., Ni, Z., Huang, X., Yao, D., Shen, Z. and Gao, Z., 2019. Comparative analysis of the complete chloroplast genome among *Prunus mume*, *P. armeniaca*, and *P. salicina*. *Horticulture research*, 6, p.89.
- Yagi, Y. and Shiina, T., 2014. Recent advances in the study of chloroplast gene expression and its evolution. *Frontiers in plant science*, 5, p.80069.
- Yaradua, S.S., Alzahrani, D.A., Albokhary, E.J., Abba, A. and Bello, A., 2019. Complete chloroplast genome sequence of *Justicia flava*: genome comparative analysis and phylogenetic relationships among Acanthaceae. *BioMed Research International*, 2019(1), p.4370258.
- Zhang, Y., Zhang, A., Li, X. and Lu, C., 2020. The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), p.6082.
- Zhang, Z., Jin, Y., Gao, Y., Zhang, Y., Ying, Q., Shen, C., Lu, J., Zhan, X., Wang, H. and Feng, S., 2022. The complete chloroplast genomes of two *Physalis* species, *Physalis macrophysa* and *P. ixocarpa*: Comparative genomics, evolutionary dynamics and phylogenetic relationships. *Agronomy*, 13(1), p.135.
- Zheng, C., Fan, J., Caraballo-Ortiz, M.A., Liu, Y., Liu, T., Fu, G., Zhang, Y., Yang, P. and Su, X., 2022. The complete chloroplast genome and phylogenetic relationship of *Apocynum pictum* (Apocynaceae), a Central Asian shrub and second-class national protected species of western China. *Gene*, 830, p.146517.

Supplementary Material

Table S1. Summary of simple sequence repeats in the chloroplast genome of *Calotropis procera*. Statistics of density distribution of seven SSR types. C, compound SSR; p1, mono-nucleotide; p2, di-nucleotide; p3, tri-nucleotide; p4, tetra-nucleotide; p5, penta-nucleotide; p6, hexa-nucleotide.

No.	SSR type	SSR	Size	Start	End
1	p4	(TTAT)4	16	292	307
2	p1	(A)12	12	1672	1683
3	p2	(TA)5	10	6771	6780
4	p4	(ATAA)3	12	8673	8684
5	p1	(A)10	10	8939	8948
6	p1	(T)14	14	10080	10093
7	p1	(A)22	22	11913	11934
8	p1	(A)10	10	12916	12925
9	p1	(T)11	11	14387	14397
10	p1	(T)11	11	14581	14591
11	p2	(TA)6	12	18414	18425
12	p2	(GA)5	10	18800	18809
13	p4	(ATTA)4	16	19854	19869

14	p3	(CTT)4	12	20309	20320
15	p1	(C)10	10	20491	20500
16	c	(C)11ggtggtatcaaaacgccgctatgccgggatatcgatatctatttctccaggaaaatgtatattccagaaaaattgtaagttcaattc(T)11	110	23533	23642
17	p2	(AT)5	10	24984	24993
18	p3	(TAT)5	15	32306	32320
19	p4	(ATTA)4	16	35460	35475
20	p1	(A)10	10	36230	36239
21	c	(TA)5tgtatatactgtatatatacatattcgaataatattacatattcgaataatataatattctatatacatatctatatacatagagattggatatgg(AT) 6	118	37693	37810
22	p4	(TTAT)3	12	38009	38020
23	p3	(TTC)4	12	41486	41497
24	p1	(T)11	11	41720	41730
25	p1	(A)13	13	42091	42103
26	p1	(C)12	12	46658	46669
27	p2	(TA)5	10	48638	48647
28	p1	(T)11	11	49932	49942
29	p1	(T)12	12	50320	50331
30	c	(T)12atttatttataaatatttaaattatttattatatttattaaatattttattaaatatttaatttaaacttt(TTTA)3	100	52614	52713
31	p4	(TAGT)3	12	53494	53505
32	p2	(AT)10	20	55256	55275
33	p1	(T)16	16	55565	55580

34	c	(T)10atttaattaatttttaa(TAAT)4tattattatctattactattatagatttctattatatttctatttttgaaattgatgaaattgaataaaaatcaattgaa ataaatg(A)11tctactttaactaagaaaaaaaatatagattatttattattattataaata(TTAT)4taat(TTTA)3ttaataatttaaaaaaatta attttaaattaa(T)10ctaattttcaattaaaaaattgaattgctaatttatttgatttattgaaattcaattatagatttctattttatgaatagaatcggtagtc ctttgg(T)10	380	57666	58045
35	p1	(T)11	11	59680	59690
36	p2	(AT)5	10	62219	62228
37	p1	(T)14	14	63964	63977
38	c	(ATT)4ctactattcctgtctgtaggcaatcaggaaa(T)10	53	70332	70384
39	p1	(T)17	17	74346	74362
40	p1	(A)11	11	74584	74594
41	p5	(CATAT)3	15	76054	76068
42	p1	(T)13	13	76839	76851
43	p6	(ACCAGA)3	18	77683	77700
44	p1	(T)10	10	78494	78503
45	p2	(TA)6	12	79128	79139
46	p4	(ATAA)3	12	81021	81032
47	p5	(GTATA)3	15	86741	86755
48	p1	(T)15	15	90335	90349
49	p1	(T)10	10	92237	92246
50	p1	(T)11	11	92527	92537
51	p1	(T)11	11	93659	93669
52	c	(T)10agtgaaacgtgtcacagcttactccta(T)10	46	94078	94123

53	p1	(A)12	12	100424	100435
54	p6	(TGGGGT)3	18	101006	101023
55	p6	(CTATTA)3	18	102195	102212
56	c	(GA)5tagtgggcttcgagagactgattgggagttcttcgagaatggaaggtgcagtagcagacgcgagatagatcttcc(A)15	101	102568	102668
57	p1	(A)12	12	113793	113804
58	p4	(GGTT)3	12	119383	119394
59	c	(AGAAAA)3agatgaaccatccagtatttctgcaccaccagagaaacctagtggaataggggac(A)18	91	120778	120868
60	p3	(TTA)6	18	123628	123645
61	p1	(A)11	11	125084	125094
62	p1	(T)15	15	125323	125337
63	p5	(AAAAT)3	15	128121	128135
64	p1	(A)10	10	129633	129642
65	c	(AT)7tactctaataataaaaaatataaaaaatagaaaataaaatataaa(AT)6	70	129831	129900
66	c	(AT)9taataatagtaattaat(ATT)3	47	130016	130062
67	p1	(A)10	10	134137	134146
68	p2	(AT)6	12	136542	136553
69	p4	(CATT)3	12	136835	136846
70	p1	(T)20	20	137939	137958
71	p6	(TTTCTT)3	18	138317	138334
72	p6	(GTCCTC)8	48	139093	139140

73	p4	(AACC)3	12	140543	140554
74	p1	(T)12	12	146133	146144
75	c	(T)15ggaagatctatctcggtctgtactgcaccctccattctgcaagaactcccaatcagtctctcgaagcccacta(TC)5	101	157269	157369
76	p6	(TAATAG)3	18	157725	157742
77	p6	(CCCCAA)3	18	158909	158926
78	p1	(T)12	12	159502	159513
79	p1	(A)10	10	165814	165823

Table S2. Summary of codon usage patterns in the chloroplast genome of *Calotropis procera*.

Amino acids	Codon	Number	RSCU
Phe	<u>UUU</u>	1002	<u>1.36</u>
	UUC	476	0.64
Leu	<u>UUA</u>	847	<u>1.85</u>
	<u>UUG</u>	557	<u>1.22</u>
	<u>CUU</u>	586	<u>1.28</u>
	CUC	179	0.39
	CUA	401	0.88
Ile	CUG	176	0.38
	<u>AUU</u>	1073	<u>1.48</u>
	AUC	421	0.58
	AUA	680	0.94
Met	AUG	567	1.00
Val	<u>GUU</u>	535	<u>1.52</u>
	GUC	177	0.50
	<u>GUA</u>	496	<u>1.41</u>
	GUG	197	0.56
Ser	<u>UCU</u>	572	<u>1.62</u>
	UCC	308	0.87
	<u>UCA</u>	382	<u>1.08</u>
	UCG	255	0.72
	AGU	440	1.25

	AGC	162	0.46
Pro	<u>CCU</u>	384	<u>1.49</u>
	CCC	208	0.80
	<u>CCA</u>	275	<u>1.06</u>
	CCG	167	0.65
Thr	<u>ACU</u>	486	<u>1.52</u>
	ACC	266	0.83
	<u>ACA</u>	373	<u>1.17</u>
	ACG	153	0.48
Ala	<u>GCU</u>	587	<u>1.76</u>
	GCC	253	0.76
	<u>GCA</u>	346	<u>1.04</u>
	GCG	145	0.44
Tyr	<u>UAU</u>	739	<u>1.56</u>
	UAC	207	0.44
Ter	<u>UAA</u>	144	<u>1.33</u>
	UAG	83	0.77
	UGA	97	0.90
His	<u>CAU</u>	418	<u>1.45</u>
	CAC	158	0.55
Gln	<u>CAA</u>	691	<u>1.54</u>
	CAG	207	0.46
Asn	<u>AAU</u>	1008	<u>1.52</u>
	AAC	319	0.48

Lys	<u>AAA</u>	1150	<u>1.46</u>
	AAG	420	0.54
Asp	<u>GAU</u>	943	<u>1.58</u>
	GAC	248	0.42
Glu	<u>GAA</u>	1109	<u>1.51</u>
	GAG	358	0.49
Cys	<u>UGU</u>	241	<u>1.45</u>
	UGC	92	0.55
Trp	UGG	438	1.00
Arg	<u>AGA</u>	549	<u>1.92</u>
	AGG	225	0.79
	<u>CGU</u>	327	<u>1.14</u>
	CGC	104	0.36
	<u>CGA</u>	351	<u>1.23</u>
	CGG	159	0.56
<u>Gly</u>	<u>GGU</u>	543	<u>1.23</u>
	GGC	200	0.45
	<u>GGA</u>	678	<u>1.54</u>
	GGG	342	0.78

Note: Values underlined indicate optimal codons for each amino acid.

Table S3. GenBank accession numbers for the chloroplast genomes of 117 species of Apocynaceae and two outgroups used in this study.

Family	Genus	Species	Accession number of GenBank
Apocynaceae	<i>Apocynum</i>	<i>Apocynum venetum</i>	MT365042.1
		<i>Apocynum pictum</i>	OM643293.1
	<i>Allamanda</i>	<i>Allamanda cathartica</i>	OQ579161.1
	<i>Asclepias</i>	<i>Asclepias nivea</i>	KF539844.1
		<i>Asclepias syriaca</i>	NC_022432.1
	<i>Alstonia</i>	<i>Alstonia mairei</i>	MW770447.1
		<i>Alstonia scholaris</i>	MN176280.1
	<i>Amalocalyx</i>	<i>Alstonia yunnanensis</i>	NC_068670.1
		<i>Amalocalyx microlobus</i>	NC_067035.1
	<i>Ansonia</i>	<i>Amsonia elliptica</i>	NC_069298.1
		<i>Amsonia tabernaemontana</i>	OP133593.1
	<i>Bousigonia</i>	<i>Bousigonia angustifolia</i>	OP133591.1
	<i>Calotropis</i>	<i>Calotropis procera</i>	NC_041440.1
		<i>Calotropis gigantea</i>	NC_041431.1
	<i>Catharanthus</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	KC561139.1
	<i>Carissa</i>	<i>Carissa macrocarpa</i>	NC_033354.1
	<i>Cerbera</i>	<i>Cerbera manghas</i>	NC_051546.1
		<i>Ceropegia dolichophylla</i>	OP133580.1
	<i>Ceropegia</i>	<i>Ceropegia longifolia</i>	OP133586.1
		<i>Ceropegia nilotica</i>	OP133584.1
	<i>Chonemorpha</i>	<i>Chonemorpha eriostylis</i>	NC_072067.1
		<i>Chonemorpha megacalyx</i>	NC_056322.1
	<i>Cynanchum</i>	<i>Cynanchum auriculatum</i>	NC_029460.1
		<i>Cynanchum bungei</i>	OK271106.1
		<i>Cynanchum chinense</i>	NC_057432.1
		<i>Cynanchum otophyllum</i>	OQ587923.1
		<i>Cynanchum rostellatum</i>	NC_063665.1
		<i>Cynanchum sibiricum</i>	OQ390041.2
		<i>Cynanchum thesioides</i>	MW864598.1
		<i>Cynanchum wilfordii</i>	NC_029459.1
	<i>Dischidia</i>	<i>Dischidia australis</i>	NC_067885.1

	<i>Dischidia griffithii</i>	NC_067965.1
	<i>Dischidia milnei</i>	MW719059.1
	<i>Dischidia nummularia</i>	NC_069567.1
	<i>Dischidia parasita</i>	MW719057.1
<i>Fockea</i>	<i>Dischidia ruscifolia</i>	NC_067966.1
	<i>Fockea edulis</i>	OP133571.1
<i>Gomphocarpus</i>	<i>Fockea multiflora</i>	OP133572.1
<i>Gongronemopsis</i>	<i>Gomphocarpus physocarpus</i>	OP133587.1
	<i>Gongronemopsis tenacissima</i>	MW861760.1
<i>Gymnema</i>	<i>Gymnema sylvestre</i>	NC_047175.1
	<i>Gymnema latifolium</i>	OP133579.1
	<i>Gymnema yunnanense</i>	OP133577.1
<i>Hemidesmus</i>	<i>Hemidesmus indicus</i>	NC_047471.1
<i>Heterostemma</i>	<i>Heterostemma oblongifolium</i>	OP133585.1
	<i>Hoya angustifolia</i>	NC_069566.1
	<i>Hoya ariadna</i>	NC_069568.1
	<i>Hoya caudata</i>	NC_069569.1
	<i>Hoya commutata</i>	NC_067958.1
	<i>Hoya dimorpha</i>	NC_067959.1
	<i>Hoya exilis</i>	MW719054.1
	<i>Hoya griffithii</i>	NC_069565.1
	<i>Hoya ignorata</i>	MW719061.1
	<i>Hoya kerrii</i>	NC_069570.1
	<i>Hoya lacunosa</i>	NC_069564.1
	<i>Hoya lanceolata</i>	NC_067960.1
	<i>Hoya liangii</i>	MH678666.1
<i>Hoya</i>	<i>Hoya lithophytica</i>	MW719058.1
	<i>Hoya longifolia</i>	NC_069560.1
	<i>Hoya lyi</i>	MW719055.1
	<i>Hoya megalaster</i>	MW719063.1
	<i>Hoya meliflua</i>	NC_069571.1
	<i>Hoya monetteae</i>	MW719053.1
	<i>Hoya omlorii</i>	MW719060.1
	<i>Hoya ovalifolia</i>	NC_069563.1
	<i>Hoya pandurata</i>	NC_069562.1
	<i>Hoya pottsii</i>	NC_042246.1
	<i>Hoya pubicalyx</i>	NC_069561.1
	<i>Hoya radicalis</i>	NC_067961.1

	<i>Hoya rigida</i>	NC_067962.1
	<i>Hoya sylvatica</i>	NC_067963.1
	<i>Hoya thomsonii</i>	NC_067612.1
<i>Huernia</i>	<i>Huernia keniensis</i>	OP133582.1
<i>Hunteria</i>	<i>Hunteria zeylanica</i>	OP133595.1
<i>Jasminanthes</i>	<i>Jasminanthes maingayi</i>	MW719056.1
	<i>Kopsia arborea</i>	OP133588.1
<i>Kopsia</i>	<i>Kopsia fruticosa</i>	OP133589.1
	<i>Kopsia hainanensis</i>	OP133590.1
<i>Leichhardtia</i>	<i>Leichhardtia flavescens</i>	MW719052.1
<i>Leptadenia</i>	<i>Leptadenia pyrotechnica</i>	NC_070251.1
<i>Lygisma</i>	<i>Lygisma inflexum</i>	OP133573.1
<i>Mandevilla</i>	<i>Mandevilla sanderi</i>	OP133569.1
<i>Marsdenia</i>	<i>Marsdenia tinctoria</i>	OP133574.1
<i>Melodinus</i>	<i>Melodinus tenuicaudatus</i>	OP133594.1
<i>Myriopteron</i>	<i>Myriopteron extensum</i>	OP133597.1
<i>Nerium</i>	<i>Nerium oleander</i>	KJ953907.1
<i>Orbea</i>	<i>Orbea variegata</i>	OP133581.1
<i>Pachypodium</i>	<i>Pachypodium lamerei</i>	OP133567.1
<i>Papouhoya</i>	<i>Papuahoya urniflora</i>	MW719062.1
<i>Parsonsia</i>	<i>Parsonsia goniostemon</i>	OP133570.1
<i>Pergularia</i>	<i>Pergularia tomentosa</i>	NC_050396.1
<i>Pentalinon</i>	<i>Pentalinon luteum</i>	OP133568.1
<i>Pentasachme</i>	<i>Pentasachme caudatum</i>	NC_054347.1
<i>Periploca</i>	<i>Periploca forrestii</i>	NC_056319.1
	<i>Periploca tsiangii</i>	NC_072254.1
<i>Plumeria</i>	<i>Plumeria krugii</i>	NC_069179.1
<i>Rauvolfia</i>	<i>Plumeria obtusa</i>	NC_069180.1
<i>Rhazya</i>	<i>Rauvolfia serpentina</i>	NC_047244.1
<i>Stephanotis</i>	<i>Rhazya stricta</i>	KJ123753.1
<i>Strophanthus</i>	<i>Stephanotis volubilis</i>	OP133576.1
	<i>Strophanthus hispidus</i>	OP133565.1
	<i>Strophanthus wallichii</i>	OP133566.1
<i>Tabernaemontana</i>	<i>Tabernaemontana bovina</i>	OP133592.1
	<i>Tabernaemontana divaricata</i>	MZ073339.1
<i>Trachelospermum</i>	<i>Trachelospermum jasminoides</i>	MK783315.1

	<i>Vallesia</i>	<i>Vallesia antillana</i>	NC_071254.1
	<i>Vinca</i>	<i>Vinca major</i>	NC_065203.1
		<i>Vincetoxicum forrestii</i>	NC_060305.1
		<i>Vincetoxicum insigne</i>	MH748558.1
		<i>Vincetoxicum lindleyi</i>	NC_069945.1
	<i>Vincetoxicum</i>	<i>Vincetoxicum mongolicum</i>	NC_065505.1
		<i>Vincetoxicum hainanense</i>	NC_051946.1
		<i>Vincetoxicum pycnostelma</i>	OK271107.1
		<i>Vincetoxicum shaanxiense</i>	NC_046785.1
	<i>Wattakaka</i>	<i>Vincetoxicum versicolor</i>	NC_052877.1
	<i>Wrightia</i>	<i>Wattakaka volubilis</i>	NC_067964.1
		<i>Wrightia laevis</i>	NC_054286.1
Outgroups			
		<i>Rhododendron calophytum</i>	NC_061396.1
Ericaceae	<i>Rhododendron</i>	<i>Rhododendron datiandingense</i>	NC_057644.1
		<i>Rhododendron latoucheae</i>	NC_063094.1
	<i>Vaccinium</i>	<i>Vaccinium myrtillus</i>	OM809159.1

Table S4. The lengths of introns and exons for the splitting genes.

Gene	Strand	Start	End	ExonI	IntronI	ExonII	IntronII	ExonIII	IntronIII	ExonIV
trnK-UUU	-	1442	4012	37	2499	35				
rps16	-	4787	5890	40	837	227				
trnG-UCC	+	9054	9790	23	677	37				
atpF	-	11684	12943	145	705	410				
rpoC1	-	25612	28437	453	765	1608				
ycf3	-	48740	50794	124	753	230	795	153		
trnL-UAA	+	53759	54327	37	482	50				
trnV-UAC	-	58387	59046	38	585	37				
accD	+	64588	67863	220	147	181	81	546	63	2038
clpP	-	78738	79974	200	700	337				
petB	+	83776	85210	6	787	642				
petD	+	85403	86597	8	712	475				
rpl16	-	90235	91668	9	1026	399				
rpl2	-	93408	94871	397	636	431				
ndhB	-	103418	105634	886	582	749				
trnI-GAU	+	110907	111932	42	949	35				
trnA-UGC	+	111996	112885	38	817	35				
ndhA	+	126288	128440	553	1061	539				
trnA-UGC	-	145623	146512	38	817	35				
trnI-GAU	-	146576	147601	42	949	35				
ndhB	+	152874	155090	886	582	749				
rpl2	+	163637	165100	397	636	431				

4 CONCLUSÕES

- 4.1** Apresentamos a primeira anotação do genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* e o comparamos de forma abrangente com outras espécies de Apocynaceae. Os resultados apresentados, indicaram que o plastoma de *C. procera* é altamente conservado, com pequenas expansões/contrações nas regiões invertidas.
- 4.2** Múltiplas regiões repetitivas (SSRs) e hotspots polimórficos identificados têm potencial para serem explorados no desenvolvimento de marcadores moleculares para futuros estudos populacionais;
- 4.3** A análise filogenética baseada em cloroplastos inteiros forneceu forte apoio para o posicionamento de *C. procera* como irmã de *C. gigantea*, em posição de grande proximidade. Em vista da grande conservação, propõe-se a aplicação de marcadores nucleares para avaliar a sinonimização desses dois taxa.
- 4.4** A árvore filogenética suporta uma relação estreita entre os gêneros *Calotropis*, *Gomphocarpus* e *Asclepias*, agrupados na tribo Asclepiadeae, oferecendo uma contribuição significativa para a compreensão das relações evolutivas dentro de Apocynaceae e entre *Calotropis procera* dentro da família.
- 4.5** Para os demais gêneros de Apocynaceae, a filogenia suporta duas fortes aparições para o gênero *Hoya*, sustentando a parafilia do grupo. Dado o forte suporte filogenético, recomenda-se que o clado menor (*Clemensiella*) deva ser tratado como um grupo separado em nível genérico ou subgenérico.
- 4.6** Novas implicações filogenéticas destacaram duas ocorrências importantes da subfamília Periplocoideae: primeiro como um clado basal e, em seguida, como um grupo monofilético dentro da subfamília Apocynoideae. Portanto, eventos históricos de hibridização não podem ser descartados em estudos com a

subfamília.

4.7 Dada a importância da espécie e o seu potencial invasivo, o presente trabalho contribuiu para um melhor entendimento do potencial de adaptação da espécie em ambientes adversos e abre caminho para trabalhos futuros que busquem avaliar a diversidade genética e as adaptações ecológicas que permitem *C. procera* prosperar em ambientes extremos.

REFERÊNCIAS

ABBASSI, Khadija; ATAY-KADIRI, Zineb; GHAOUT, Said. Biological effects of alkaloids extracted from three plants of Moroccan arid areas on the desert locust. **Physiological Entomology**, v. 28, n. 3, p. 232-236, 2003.

AEBERSOLD, Ruedi; MANN, Matthias. Mass spectrometry-based proteomics. **Nature**, v. 422, n. 6928, p. 198-207, 2003.

AL HASSAN, Mohamad *et al.* Unraveling salt tolerance mechanisms in halophytes: a comparative study on four Mediterranean *Limonium* species with different geographic distribution patterns. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1438, 2017.

ANDRADE, M. V. M. *et al.* Fenologia da *Calotropis procera* Ait R. Br., em função do sistema e da densidade de plantio. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, n. 208, p. 631-634, 2005.

APG II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, n. 4, p. 399-436, 2003.

ARYA, Soneera; KUMAR, Vijay L. Antiinflammatory efficacy of extracts of latex of *Calotropis procera* against different mediators of inflammation. **Mediators of inflammation**, v. 2005, n. 4, p. 228-232, 2005.

BARRETT, Spencer CH; COLAUTTI, Robert I.; ECKERT, Christopher G. Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. **Molecular ecology**, v. 17, n. 1, p. 373-383, 2008.

BENJAMIN, Jenifer Joseph *et al.* Metabolomic insights into the mechanisms underlying tolerance to salinity in different halophytes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 135, p. 528-545, 2019.

BENZING, David H. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. Cambridge University Press, 2000.

BITENCOURT, Cássia *et al.* Evolution of dispersal, habit, and pollination in Africa pushed Apocynaceae diversification after the Eocene-Oligocene climate transition. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, p. 719741, 2021.

BIRKY JR, C. William. Evolution and variation in plant chloroplast and mitochondrial genomes. In: **Plant evolutionary biology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1988. p. 23-53.

BROWN, Robert. On the Asclepiadeae, a natural order of plants separated from the Apocineae of Jussieu. **Mem. Wern. Nat. Hist. Soc**, v. 1, n. 1811, p. 12–78, 1810.

CABI, International. **Compêndio de Espécies Invasivas**. 2021. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/16848>. Acesso em: 6 de abr. de 2024.

CAVICCHIOLI, Ricardo. Extremophiles and the search for extraterrestrial life. **Astrobiology**, v. 2, n. 3, p. 281-292, 2002.

CHACON, Daisy Sotero *et al.* Proteome of *Erythroxylum pungens* (Erythroxylaceae): an endemic species of the semiarid Caatinga. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 155, n. 6, p. 1165-1167, 2021.

COLOMBO, Rita *et al.* Relaciones hídricas, fotosíntesis, y anatomía foliar de dos especies del género *Calotropis*. **Interciencia**, v. 32, n. 11, p. 791-796, 2007.

CROTHERS, M.; NEWBOUND, S. Rubber bush. **Agnote F64, Northern Territory Department of Primary Industries and Fisheries**. Darwin, NT., 1998.

DALLA COSTA, Tanara P. *et al.* The plastome of *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo reveals unique evolutionary features and loss of essential tRNA genes. **Planta**, v. 255, n. 3, p. 57, 2022.

DANIELL, Henry *et al.* Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. **Genome biology**, v. 17, p. 1-29, 2016.

DE OLIVEIRA, Rafaelle Souza *et al.* Leaf structure of *Tillandsia* species (Tillandsioideae: Bromeliaceae) by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, 2021.

ENDRESS, Mary E.; BRUYNS, Peter V. A revised classification of the Apocynaceae sl. **The Botanical Review**, v. 66, p. 1-56, 2000.

ENDRESS, Mary E.; LIEDE-SCHUMANN, Sigrid; MEVE, Ulrich. An updated classification for Apocynaceae. **Phytotaxa**, v. 159, n. 3, p. 175-194, 2014.

ENDRESS, Mary E. *et al.* Apocynaceae: Periplocaceae Schltr. (1905). In: KADEREIT, Joachim W.; BITTRICH, Volker (ed.). **Flowering plants. Eudicots: Apiales, Gentianales (except Rubiaceae)**. Springer, 2019, p. 207-411.

ENDRESS, Mary E. Apocynaceae: Brown and now. **Telopea**, v. 10, n. 2, p. 525-541, 2004.

FERREIRA-NETO, José Ribamar Costa et al. Dehydration response in *Stylosanthes scabra*: Transcriptional, biochemical, and physiological modulations. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 6, p. e13821, 2022.

FIEHN, Oliver. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. **Functional genomics**, p. 155-171, 2002.

FISHBEIN, Mark et al. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. **American Journal of Botany**, v. 105, n. 3, p. 495-513, 2018.

Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 17 abr. 2024.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **new Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 945-963, 2008.

FORZZA, Rafaela Campostrini. Revisão taxonômica de *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, p. 1-49, 2005.

FRANCIS, JK, 2002. *Calotropis procera* (Ait.) Ait. In: FRANCIS, JK, (ed.) Wildland shrubs of the United States and its territories: thamnic descriptions. USDA Forest Service General Technical Report IITF-WB-1.

FROSI, Gabriella et al. Ecophysiological performance of *Calotropis procera*: an exotic and evergreen species in Caatinga, Brazilian semi-arid. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 335-344, 2013.

GADRI, Hari Shankar et al. Chromosome scale assembly unveils genomic structure and gene families of *Calotropis procera*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 300, n. 1, p. 64, 2025.

GHAZOUL, Jaboury. Flowers at the front line of invasion?. **Ecological entomology**, v. 27, n. 5, 2002.

GIVNISH, Thomas J. et al. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany**, v. 23, n. 1, p. 3-26, 2007.

GIVNISH, Thomas J. et al. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 71, p. 55-78, 2014.

GONÇALVES-OLIVEIRA, Rodrigo C.; RODRIGUES, Higor B.; BENKO-ISEPPON, Ana M. Range distribution of the invasive alien species *Calotropis procera*

in South America dry environments under climatic change scenarios. **Journal of Arid Environments**, v. 205, p. 104819, 2022.

GRACE, Blair S. The biology of Australian weeds. 45. *Calotropis procera* (Aiton) WT Aiton. **Plant Protection Quarterly**, v. 21, n. 4, p. 152, 2006.

GREEN, Beverley R. Chloroplast genomes of photosynthetic eukaryotes. **The plant journal**, v. 66, n. 1, p. 34-44, 2011.

GRIN (2021). Plant Germplasm: Taxonomy. Disponível em: <http://www.tn-grin.nat.tn/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=8653>. Acesso em: 6 mar.2024.

GUO, Yu-Ru *et al.* Effect of drying methods on chemical composition and biological activity of essential oil from Cumin (*Cuminum cyminum* L.). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 5, p. 1295-1302, 2018.

HANDELSMAN, Jo *et al.* Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chemistry & biology**, v. 5, n. 10, p. R245-R249, 1998.

HASSAN, Loutfy M. *et al.* The biology of *Calotropis procera* (Aiton) WT. **Trees**, v. 29, p. 311-320, 2015.

HUANG, Wei-Ping *et al.* Molecular phylogenetics and biogeography of the eastern Asian–eastern North American disjunct *Mitchella* and its close relative *Damnacanthus* (Rubiaceae, Mitchelleae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 2, p. 395-412, 2013.

HUDSON, Nicholas J.; REVERTER, Antonio; DALRYMPLE, Brian P. A differential wiring analysis of expression data correctly identifies the gene containing the causal mutation. **PLoS computational biology**, v. 5, n. 5, p. e1000382, 2009.

IQBAL, Mazhar *et al.* Expression of HMA4 cDNAs of the zinc hyperaccumulator *Noccaea caerulea* from endogenous NcHMA4 promoters does not complement the zinc-deficiency phenotype of the *Arabidopsis thaliana* hma2hma4 double mutant. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 404, 2013.

IQBAL, Umam *et al.* Phenotypic plasticity in rubber bush (*Calotropis procera*) along altitudinal gradient. **Environmental and Experimental Botany**, v. 218, p. 105616, 2024.

IQBAL, Umam; HAMEED, Mansoor; AHMAD, Farooq. Structural and functional traits underlying the capacity of *Calotropis procera* to face different stress conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 203, p. 107992, 2023.

JARVIS, Paul; LÓPEZ-JUEZ, Enrique. Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 14, n. 12, p. 787-802, 2013.

KAUR, Amarpreet *et al.* An overview of the characteristics and potential of *Calotropis procera* from botanical, ecological, and economic perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 690806, 2021.

KHAN, Rezwana *et al.* Biodiversity of the endophytic fungi isolated from *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 6, p. 2233-2239, 2007.

KOLODNER, Richard; TEWARI, K. K. Inverted repeats in chloroplast DNA from higher plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 1, p. 41-45, 1979.

KOLODNER, Richard; TEWARI, K. K. Molecular size and conformation of chloroplast deoxyribonucleic acid from pea leaves. **Journal of biological chemistry**, v. 247, n. 19, p. 6355-6364, 1972.

KÖRNER, Christian. **Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems; with 47 tables**. Springer Science & Business Media, 2003.

KRÄMER, Ute. Conceptualizing plant systems evolution. **Current opinion in plant biology**, v. 42, p. 66-75, 2018.

KU, Chuan *et al.* The complete plastid genome sequence of Madagascar periwinkle *Catharanthus roseus* (L.) G. Don: plastid genome evolution, molecular marker identification, and phylogenetic implications in asterids. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. e68518, 2013.

KUMAR, Harish; SHARMA, Sunil; VASUDEVA, Neeru. Pharmacological profile of *Calotropis gigantea* in various diseases: A profound look. **Int J Creat Res Thoughts**, v. 9, n. 2, p. 2987-96, 2021.

LANDER, Eric S. *et al.* Erratum: Initial sequencing and analysis of the human genome: international human genome sequencing consortium. **Nature**, v. 412, n. 6846, p. 565-566, 2001.

LEÃO, T. C. C. *et al.* Espécies Exóticas Invasoras no Nordeste do Brasil: Contextualização. **Manejo e Políticas Públicas. Recife: Cepan**, 2011.

LEROY, Celine *et al.* Ontogenetic changes in root traits and root-associated fungal community composition in a heteroblastic epiphytic bromeliad. **Oikos**, p. e09213, 2022.

LIU, D. *et al.* COR15B expression is affected by chloroplast functionality and its role in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Biologia plantarum**, v. 58, p. 667-675, 2014.

LIVSHULTZ, Tatyana *et al.* Phylogeny of Apocynoideae and the Apsa clade (Apocynaceae SL) 1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 94, n. 2, p. 324-359, 2007.

LOPEZ-JUEZ, Enrique; PYKE, Kevin A. Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. **International Journal of Developmental Biology**, v. 49, n. 5/6, p. 557, 2005.

LORENZI, Harri; MATOS, F. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Instituto Plantarum, **Nova Odessa: Jardim Botânico Plantarum**, p.80-81, 2002.

MAJEED, Aasim *et al.* Elucidation of genetic diversity base in *Calotropis procera*—a potentially emerging new fibre resource. **Plant Genetic Resources**, v. 18, n. 3, p. 159-167, 2020.

MALIGA, Pal. Plastid transformation in higher plants. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 55, p. 289-313, 2004.

MARUYAMA, T.; BIRKY-JR, C. W. Effects of periodic selection on gene diversity in organelle genomes and other systems without recombination. **Genetics**, v. 127, n. 2, p. 449, 1991.

MELO, Adglecianne S. *et al.* C3-species *Calotropis procera* increase specific leaf area and decrease stomatal pore size, alleviating gas exchange under drought and salinity. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, p. 1-11, 2021.

MENGGE, Enock O. *et al.* The potential distribution of the woody weed *Calotropis procera* (Aiton) WT Aiton (Asclepiadaceae) in Australia. **The Rangeland Journal**, v. 38, n. 1, p. 35-46, 2016.

MILLEN, Ronny S. *et al.* Many parallel losses of *infA* from chloroplast DNA during angiosperm evolution with multiple independent transfers to the nucleus. **The Plant Cell**, v. 13, n. 3, p. 645-658, 2001.

MOREIRA, Catarina. Cloroplasto. **Revista de Ciência Elementar**, v. 3, n. 3, 2015.

MURIIRA, Nkatha G. *et al.* Genetic diversity analysis reveals genetic differentiation and strong population structure in *Calotropis plants*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 7832, 2018.

MUTWAKIL, Mohammed Z. et al. Transcriptomic and metabolic responses of *Calotropis procera* to salt and drought stress. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 1, p. 231, 2017.

NAZAR, Nazia et al. Phylogenetic relationships in Apocynaceae based on nuclear *PHYA* and plastid *trnL-F* sequences, with a focus on tribal relationships. **Caryologia**, v. 72, n. 1, p. 55-81, 2019.

NOBEL, Park S. **Environmental biology of agaves and cacti**. Cambridge University Press, 2003.

OLIVEIRA, Eduardo V. S.; LANDIM, Myrna F. Dunes in the North coast of Sergipe, Brazil: plant species and their ecological traits. **Rodriguésia**, v. 71, p. e01242018, 2020.

OLLERTON, Jeff et al. The diversity and evolution of pollination systems in large plant clades: Apocynaceae as a case study. **Annals of botany**, v. 123, n. 2, p. 311-325, 2019.

PANDA, Purnendu et al. Important uses of arka (*Calotropis procera* Linn) in Indian system of medicine with pharmacological evidence. **Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics**, v. 7, n. 1, p. 46-49, 2015.

PANDEY, Akansha et al. Transcriptome and metabolite analysis reveal candidate genes of the cardiac glycoside biosynthetic pathway from *Calotropis procera*. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 34464, 2016.

POGSON, Barry J.; ALBRECHT, Verónica. Genetic dissection of chloroplast biogenesis and development: an overview. **Plant Physiology**, v. 155, n. 4, p. 1545-1551, 2011.

POGSON, Barry J.; GANGULY, Deep; ALBRECHT-BORTH, Verónica. Insights into chloroplast biogenesis and development. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1847, n. 9, p. 1017-1024, 2015.

POMPELLI, Marcelo F. et al. Mesophyll thickness and sclerophylly among *Calotropis procera* morphotypes reveal water-saved adaptation to environments. **Journal of Arid Land**, v. 11, p. 795-810, 2019.

POPP, Marianne. Salt resistance in herbaceous halophytes and mangroves. **Progress in Botany: Structural Botany Physiology Genetics Taxonomy Geobotany/Fortschritte der Botanik Struktur Physiologie Genetik Systematik Geobotanik**, p. 416-429, 1995.

RAPINI, Alessandro. "Taxonomy" under construction": advances in the systematics of Apocynaceae, with emphasis on the Brazilian Asclepiadoideae. **Rodriguésia**, v. 63, p. 075-088, 2012.

RAPINI, Alessandro; VAN DEN BERG, Cássio; LIEDE-SCHUMANN, Sigrid. Diversification of Asclepiadoideae (Apocynaceae) in the new world. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 94, n. 2, p. 407-422, 2007.

REJMÁNEK, Marcel. Invasive plants: approaches and predictions. **Austral ecology**, v. 25, n. 5, p. 497-506, 2000.

REUMANN, Sigrun; INOUE, Kentaro; KEEGSTRA, Kenneth. Evolution of the general protein import pathway of plastids. **Molecular membrane biology**, v. 22, n. 1-2, p. 73-86, 2005.

RIVAS, Rebeca *et al.* Photosynthetic limitation and mechanisms of photoprotection under drought and recovery of *Calotropis procera*, an evergreen C3 from arid regions. **Plant physiology and biochemistry**, v. 118, p. 589-599, 2017.

RIVAS, Rebeca; SANTOS, Mauro G. The desert plant *Calotropis procera* maintains C3 photosynthetic metabolism under salt stress. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 35, n. 1, p. 1-16, 2023.

ROCHA, Carlos Frederico Duarte *et al.* Habitat disturbance in the Brazilian coastal sand dune vegetation and related richness and diversity of bromeliad species. **Vidalia**, v. 2, n. 2, p. 49-55, 2004.

ROLLAND, Norbert *et al.* The biosynthetic capacities of the plastids and integration between cytoplasmic and chloroplast processes. **Annual review of genetics**, v. 46, p. 233-264, 2012.

ROTHSCHILD, Lynn J.; MANCINELLI, Rocco L. Life in extreme environments. **Nature**, v. 409, n. 6823, p. 1092-1101, 2001.

SAKAMOTO, Wataru; MIYAGISHIMA, Shin-ya; JARVIS, Paul. Chloroplast biogenesis: control of plastid development, protein import, division and inheritance. **The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists**, v. 6, 2008.

SCARCELLI, Nora *et al.* A set of 100 chloroplast DNA *primer* pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. **Plos one**, v. 6, n. 5, p. e19954, 2011.

SEHGAL, R.; ARYA, Sunil; KUMAR, V. L. Inhibitory effect of extracts of latex of *Calotropis procera* against *Candida albicans*: A preliminary study. **Indian Journal of pharmacology**, v. 37, n. 5, p. 334-335, 2005.

SHARMA, B. M. Root systems of some desert plants in Churu, Rajasthan. **Indian Forester**, v. 94 n. 3, p. 240-246, 1968.

SHI, Chengcheng *et al.* Complete chloroplast genomes of 14 mangroves: phylogenetic and comparative genomic analyses. **BioMed Research International**, v. 2020, n. 1, p. 8731857, 2020.

SHIVKAR, Y. M.; KUMAR, V. L. Anthelmintic activity of latex of *Calotropis procera*. **Pharmaceutical biology**, v. 41, n. 4, p. 263-265, 2003.

SILVA, Gleyson M. *et al.* Genetic and evolutionary analyses of plastomes of the subfamily Cactoideae (Cactaceae) indicate relaxed protein biosynthesis and tRNA import from cytosol. **Brazilian Journal of Botany**, v. 44, p. 97-116, 2021.

SIMÕES, André O. *et al.* Phylogeny And Systematics Of The Rauvolfioideae (Apocynaceae) Based On Molecular And Morphological Evidence1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 94, n. 2, p. 268-297, 2007.

SRIVASTAVA, Sharad; SINGH, Adarsh Pratap; RAWAT, A. K. S. Comparative botanical and phytochemical evaluation of *Calotropis procera* Linn. and *Calotropis gigantea* Linn. Root. **Journal of applied Pharmaceutical science**, v. 5, n. 07, p. 041-047, 2015.

SOBRINHO, Mellissa Sousa *et al.* Reproductive phenological pattern of *Calotropis procera* (Apocynaceae), an invasive species in Brazil: annual in native areas; continuous in invaded areas of caatinga. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 456-459, 2013.

SOLÓRZANO, Sofía *et al.* De novo assembly discovered novel structures in genome of plastids and revealed divergent inverted repeats in Mammillaria (Cactaceae, Caryophyllales). **Plants**, v. 8, n. 10, p. 392, 2019.

STAPLES, George W.; HERBST, Derral R. **A tropical garden flora: plants cultivated in the Hawaiian Islands and other tropical places**. Bishop Museum, Honolulu, Hawai'i: Bishop Museum Press. 2005, pp. 918.

STRAUB, Shannon C. K. *et al.* Building a model: developing genomic resources for common milkweed (*Asclepias syriaca*) with low coverage genome sequencing. **BMC genomics**, v. 12, p. 1-22, 2011.

SZABADOS, László *et al.* Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance. In: **Advances in Botanical Research**. Academic Press, 2011. p. 105-150.

TABATINGA FILHO, George Machado. **Fenologia, biologia reprodutiva e ecologia da polinização de *Calotropis procera* Ait. R. Br.(APOCYNACEAE-ASCLEPIADOIDEAE)**. 2008. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

TAIZ, Lincoln.; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TEZARA, Wilmer *et al.* Water relations and photosynthetic capacity of two species of *Calotropis* in a tropical semi-arid ecosystem. **Annals of botany**, v. 107, n. 3, p. 397-405, 2011.

UZILDAY, Rengin Ozgur; GANIE, Showkat Ahmad. Extremophiles: tolerance mechanisms and use in crop improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1233202, 2023.

VERMA, Vishwa Nath. The chemical study of *Calotropis*. **International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy**, v. 1, p. 74-90, 2014.

VIANA, Simone S.; SANTOS, João U. M.; SIMÕES, André O. Diversidade taxonômica de Apocynaceae na ilha do Marajó, PA, Brasil. **Rodriguésia**, v. 68, p. 623-652, 2017.

VOLLAND, Stefanie *et al.* Rescue of heavy metal effects on cell physiology of the algal model system *Micrasterias* by divalent ions. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 2, p. 154-163, 2014.

WANG, Zhong; GERSTEIN, Mark; SNYDER, Michael. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature reviews genetics**, v. 10, n. 1, p. 57-63, 2009.

WISE, Robert R.; HOOBER, J. Kenneth (Ed.). The structure and function of plastids. Advances in Photosynthesis and Respiration, **Springer**, v. 23, 2007.

YAGI, Yusuke; SHIINA, Takashi. Recent advances in the study of chloroplast gene expression and its evolution. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 80069, 2014.

ZHANG, Yi *et al.* The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 17, p. 6082, 2020.

CURRÍCULO LATTES DURANTE O VÍNCULO COM O PPGGBM



Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico







Laura Maria Rodrigues da Paixão

 Endereço para acessar este CV: <https://lattes.cnpq.br/3870627275715297>

 Última atualização do currículo em 24/07/2024

Possui graduação em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais pela UFPE (2021) e desempenha mestrado acadêmico pelo Programa de Genética e Biologia Molecular na UFPE. É vinculada ao Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal (LGBV), onde atua nas áreas de Genética e Biodiversidade em projetos relacionados a metagenômica, bioinformática, biogeografia, sistemática molecular, genética de populações e evolução. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Laura Maria Rodrigues da Paixão

Filiação

Francisco Assis da Paixão e Eliane Rodrigues da Silva Paixão

Nascimento

27/01/1998 - Recife/PE - Brasil

Nome em citações bibliográficas

Rodrigues-Paixão, LM

Formação acadêmica/titulação

2022

Mestrado em Genética, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Genoma cloroplástico de Calotropis procera: estrutura e relações filogenéticas em Apocynaceae
Orientador: Ana Maria Benito Isegoun
Co-orientador: Rodrigo César Gonçalves Oliveira & Flavia Figueira Aburjalle
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2017 - 2021

Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Biogeografia da subfamília Tillandsioideae na Caatinga (Bromeliaceae): padrões de fluxo gênico e integridade interespecífica de Tillandsia streptocarpa
Orientador: Rodrigo César Gonçalves de Oliveira

2016

Ensino Profissional de nível técnico interrompido(a) em Telecomunicações, Instituto Federal de Pernambuco, IFPE, Recife, Brasil
Ano de interrupção: 2018

2022

Ensino Profissional de nível técnico em Meio Ambiente, Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - PE, SENAC/PE, Recife, Brasil

Formação complementar

2016 - 2017

Curso de curta duração em IT Essenciais (CISCO), (Carga horária: 70h), Instituto Federal de Pernambuco, IFPE, Recife, Brasil

2016 - 2016

Curso de curta duração em Introduction to the Internet of Everything, (Carga horária: 8h), Instituto Federal de Pernambuco, IFPE, Recife, Brasil

2017 - 2017

Curso de curta duração em Introdução à Gestão Ambiental e Sustentabilidade nos Negócios, (Carga horária: 10h), Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

2017 - 2017

Curso de curta duração em Auxiliar de Laboratório em Saúde, (Carga horária: 200h), Programa Nacional de Acesso ao Ensino Técnico e Emprego, PRONATEC, Brasil

2017 - 2017

Curso de curta duração em Lógica de Programação, (Carga horária: 14h), SENAI - Departamento Regional do Espírito Santo, SENAI/DRIES, Vitória, Brasil

2017 - 2017

Curso de curta duração em Auxiliar de Biotecnologia, (Carga horária: 240h), Programa Nacional de Acesso ao Ensino Técnico e Emprego, PRONATEC, Brasil

2018 - 2018

Curso de curta duração em Técnicas de Biotecnologia Vegetal aplicadas em estudo de salinidade, (Carga horária: 10h), Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

2018 - 2018

Curso de curta duração em Mangue e Sustentabilidade, (Carga horária: 20h), Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

2018 - 2018

Curso de curta duração em Água e Floresta: uso sustentável da Caatinga, (Carga horária: 20h), Agência Nacional de Águas, ANA, Brasília, Brasil

2019 - 2019

Curso de curta duração em Libras para iniciantes na dopêndia, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Campina Grande, Brasil

2020 - 2021

Curso de curta duração em Basic English, (Carga horária: 170h), SENAC - S. FORT, Rio De Janeiro, Brasil

2020 - 2020

Curso de curta duração em Biossegurança em Foco, (Carga horária: 45h), Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz, Ribeirão Preto, Brasil

2020 - 2020

Curso de curta duração em Sequenciamento e diagnóstico molecular do novo Coronavirus, Universidade do câncer, UC, Brasil

2020 - 2020

Curso de curta duração em Hemograma, Anemia e Linfadenopatia, (Carga horária: 30h), Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil

2020 - 2020

Extensão universitária em Escrita científica com segredos, (Carga horária: 30h), Claretiano Centro Universitário, Claretiano/BAT, Batatais, Brasil

2020 - 2020

Curso de curta duração em Educação Ambiental, (Carga horária: 40h),

	Universidade Federal do Pará, UFPA, Belem, Brasil
2021 - 2021	Curso de curta duração em PCR quantitativa em tempo real como ferramenta para avaliar expressão gênica. Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
2021 - 2021	Curso de curta duração em Introdução ao R. Universidade Estadual do Maranhão, UEMA, Sao Luis, Brasil
2021 - 2021	Curso de curta duração em Métodos de Construção e Interpretação de Árvores Filogenéticas. Sociedade Botânica do Brasil - DF, SBB, Brasília, Brasil
2022 - 2022	Curso de curta duração em Good Clinical Practice. The Global Health Network, TGHN, Estados Unidos
2022 - 2022	Curso de curta duração em Capacitação em Controle Ambiental. (Carga horária: 60h). Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, Brasil
2023 - 2023	Curso de curta duração em Exames de Vínculo Genético. UnIDB, UNIDB, Brasil
2023 - 2023	Curso de curta duração em Aprofundamento em Genética Humana. UnIDB, UNIDB, Brasil
2023 - 2023	Curso de curta duração em Técnicas Avançadas em Microscopia Óptica e Eletrônica. (Carga horária: 80h). Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio De Janeiro, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em Cromatografia. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, Brasília, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em Introdução ao OpenMP. Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petropolis, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em Introdução ao ambiente SDUMONT. Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petropolis, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em Programação em GPU com OpenACC. Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petropolis, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em AMPI adaptive MPI. Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petropolis, Brasil
2024 - 2024	Curso de curta duração em Bioinformática Aplicada à Metagenômica: Análise Integrativa de Dados Microb. Rede de Pesquisa dos ecossistemas Mangue e Rostinga, REDE MARE, Brasil

Atuação profissional

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

2022 - Atual	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Mestranda , Carga horária: 20, Regime: Universidade Federal de PernambucoDedicação exclusiva
2021 - 2022	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime: Universidade Federal de PernambucoDedicação exclusiva Outras informações: ANÁLISE DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL DE TILLANDSIA LOLIACEA (BROMELIACEAE) NO SERTÃO NORDESTINO
2020 - 2021	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime: Universidade Federal de PernambucoDedicação exclusiva Outras informações: PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA E DISTRIBUIÇÃO DE Tillandsia streptocarpa Baker. (BROMELIACEAE) NA CAATINGA: ANÁLISE BASEADA EM ÁREAS DE ENDEMISMO
2019 - 2020	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime: Universidade Federal de PernambucoParcial Outras informações: ANÁLISE DO FLUXO GÊNICO E INTEGRIDADE INTRAESPECÍFICA ENTRE DOIS MORFOTIPOS DE Tillandsia streptocarpa (BROMELIACEAE) OCORRENTES NO SERTÃO NORDESTINO
2018 - 2019	Vínculo: Iniciação científica , Enquadramento funcional: Estagiário voluntário , Carga horária: 20, Regime: Universidade Federal de PernambucoParcial

Atividades

04/2018 - 02/2022	Estágio, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Genética Estágio: Iniciação Científica na área de Genética Evolutiva e da Conservação
-------------------	---

Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suely Galdino - NUPIT-SG

2022 - 2022	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 20, Regime: Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suely GaldinoParcial Outras informações: Atuou na rede de Pesquisa Clínica e Aplicada em Chikungunya - REPLICK, vinculada ao Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas, coletando e organizando dados clínicos.
-------------	---

Projetos

Projetos de pesquisa

2019 - Atual	Genética, Filogenia e Ecologia de Bromeliaceae Descrição: O projeto pretende utilizar uma gama diversificada de metodologias para explorar os processos que influenciam a biodiversidade. Entre as abordagens empregadas estão a genética de populações, com ênfase em marcadores microssatélites, filogenia, técnicas filogeográficas, análises de diversidade e endemismo, além da modelagem de nicho ecológico (SDM). Nesse contexto, diferentes gêneros da família Bromeliaceae são utilizados como grupo modelo de estudo. Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (2); Integrantes: Laura Maria Rodrigues da Paixão; Rodrigo César Gonçalves-Oliveira; Ana Maria Benko-Iseppon (Responsável)
--------------	--

Projeto de extensão

- 2023 - 2024

Monitoramento de espécies florestais em área de reflorestamento, na Mata do Zumbi, no município do Cabo de Santo Agostinho/PE
- Descrição:

Monitoramento de espécies nativas para avaliação, recuperação e restauração de Ecossistemas. Realizado pela Souza Barros Consultoria em Sustentabilidade, em parceria com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Laboratório de Pesquisas Integradas de Gestão para os Ambientes (LAPIGA), Pró-Reitoria de Extensão e Cultura (PROEXC) e o Laboratório ARRE Água.
- Situação:

Concluído
- Natureza:

Projeto de extensão
- Alunos envolvidos:

Graduação (6), Mestrado acadêmico (2)
- Integrantes:

Laura Maria Rodrigues da Paixão, André Paulo de Barros (Responsável), Diego Vandeval Maranhão de Melo

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética
2. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética
3. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética

Prêmios e títulos

- 2024

Selo avançado em Bioinformática Aplicada à Metagenômica, Rede de Pesquisa dos ecossistemas Mangue e Restinga (Rede MaRe)
- 2021

Menção Honrosa na área de Genética, Evolução e Melhoramento Vegetal, XXIII Encontro de Genética do Nordeste

Produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1.  **Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** A sequência completa e estrutura do genoma do cloroplasto de *Calotropis procera* (Alton) W. T. (Apocynaceae) In: 73º Congresso Nacional de Botânica, 2023, Belém - PA. **Congresso nacional de botânica**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*
2. **Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Análise comparativa de genomas plastidiais: *Calotropis procera* (Alton) W. T. e espécies relacionadas In: 73º Congresso Nacional de Botânica, 2023, Belém - PA. **73º Congresso Nacional de Botânica**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital*
3. **SANTOS, J. K. U.; FALCAO, J. P. C.; Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Desenho de primers de microssatélites in silico para *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) In: XXIV Encontro de Genética do Nordeste, 2023, **XXIV Encontro de Genética do Nordeste**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*
4. **VITORINO, M. L. L.; Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Genética de populações de *Dyckia erectiflora* (L.B.Sm) Forzza em áreas de carasco In: 73º Congresso Nacional de Botânica, 2023, **73º Congresso Nacional de Botânica**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*
5. **Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; ABURJALE, F. F.; BINNECK, E.; FERREIRA-NETO, J. R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Novo genoma cloroplastidial de *Calotropis procera* e implicações filogenéticas em Apocynaceae In: XXIV Encontro de Genética do Nordeste, 2023, **ENGENE**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*
6. **Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BINNECK, E.; ABURJALE, F. F.; FERREIRA-NETO, J. R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Plastoma de *Calotropis procera*: implicações filogenéticas em Apocynaceae In: XIII Jornada de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2023, **Jornada PPGGBM**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*
7. **FALCAO, J. P. C.; SANTOS, J. K. U.; Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Validação de in silico e in vitro de primers de Microssatélites em Espécies de Bromeliaceae In: 73º Congresso Nacional de Botânica, 2023, **73º Congresso Nacional de Botânica**. 2023. *Referências adicionais: Brasil/Português.*

Apresentação de trabalho e palestra

1. **Rodrigues-Paixão, LM.** *Calotropis procera* chloroplast genome: structure and phylogenetic relationships in Apocynaceae, 2024. (Seminário Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
2.  **Rodrigues-Paixão, LM; GONCALVES-OLIVEIRA, R. C.; BENKO-ISEPPON, A. M.** Metagenômica de Bromélias Extremófilas da Caatinga: *Tillandsia streptocarpa* e *Dyckia spectabilis*, 2023. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: UFPE; Cidade: Recife; Evento: I Workshop de Bioinformática e Biotecnologia de Plantas; Inst.promotora/financiadora: Rede INTERSIS

Produção técnica

Demais produções técnicas

1. **Rodrigues-Paixão, LM.** PCR (Polimerase Chain Reaction) Convencional e Tempo Real, 2023. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)
Referências adicionais: Brasil/Português. 12 horas. Meio de divulgação: Meio digital

Eventos

Eventos

Participação em eventos

- 1. XVI Escola do Supercomputador Santos Dumont, 2024. (Oficina) .
- 2. 73º Congresso Nacional de Botânica, 2023. (Congresso) .
- 3. I Workshop de Bioinformática e Biotecnologia de Plantas, 2023. (Simpósio) .
- 4. XXIV Encontro de Genética do Nordeste, 2023. (Encontro) .

Organização de evento

- 1. Rodrigues-Paixão, LM, XIII Jornada de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2023. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português, Meio de divulgação: Meio digital
- 2. Rodrigues-Paixão, LM, XXIV Encontro da Rede de Estudos Ambientais dos Países de Língua Portuguesa – REALP, 2023. (Congresso, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português, Meio de divulgação: Meio digital

Bancas

Bancas

Participação em banca de comissões julgadoras

Outra

- 1. Avaliadora das Propostas PIBIC/IPIVIC-CNPQ-UNIVASF, 2024, Universidade Federal do Vale do São Francisco.
Referências adicionais: Brasil/Português.
- 2. Avaliadora de propostas de ações de extensão (EDITAL Nº 06/2023/PROEX e EDITAL Nº 07/2023/PROEX), 2024, Universidade Federal do Cariri.
Áreas do conhecimento: Meio Ambiente, Saúde Coletiva, Cultura e Sustentabilidade
Referências adicionais: Brasil/Português.
- 3. Moderador, arguindo a palestra do projeto de título "Molecular characterization and evaluation of the antibacterial activity of a plant defensin peptide derived from a gene of oat (Avena sativa L.)", 2024, Universidade Federal de Pernambuco.
Referências adicionais: Brasil/Português.
- 4. Avaliadora dos resumos da Semana do Meio Ambiente - SEMAMB, 2023, Universidade Federal de Pernambuco.
Áreas do conhecimento: Sistemática e Evolução
Referências adicionais: Brasil/Português.
- 5. Moderador, arguindo a palestra do projeto de título "AP2/ERF Transcription Factors for Tolerance to Both Biotic and Abiotic Stress Factors in Plants", 2023, Universidade Federal de Pernambuco.
Referências adicionais: Brasil/Português.
- 6. Avaliadora dos resumos da Semana do Meio Ambiente - SEMAMB, 2022, Universidade Federal de Pernambuco.
Áreas do conhecimento: Sistemática e Evolução
Referências adicionais: Brasil/Português.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos	11
Apresentações de trabalhos (Conferência ou palestra)	1
Apresentações de trabalhos (Congresso)	3
Apresentações de trabalhos (Seminário)	3

Produção técnica

Curso de curta duração ministrado (extensão)	1
--	---

Eventos

Participações em eventos (congresso)	4
Participações em eventos (seminário)	3
Participações em eventos (simpósio)	6
Participações em eventos (oficina)	2
Participações em eventos (encontro)	4
Participações em eventos (outra)	1
Organização de evento (congresso)	2
Organização de evento (outra)	1
Participação em banca de comissões julgadoras (outra)	6

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA

AUTHOR GUIDELINES

<https://onlinelibrary.wiley.com/pb->

[assets/assets/17596831/JSE_Author_Guidelines_July_2015-1497925335000.pdf](https://onlinelibrary.wiley.com/pb-assets/assets/17596831/JSE_Author_Guidelines_July_2015-1497925335000.pdf)