

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

Abordagem genômica, transcriptômica e evolutiva no estudo de genes  
envolvidos na biossíntese de carotenóides: enfoque em *Psidium*  
*cattleianum* Sabine L. (Myrtaceae), uma espécie frutífera nativa da Mata  
Atlântica

MÁRCIA PAGNO LISBÔA

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup> Andreia Carina Turchetto Zolet

Porto Alegre, julho de 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

Abordagem genômica, transcriptômica e evolutiva no estudo de genes  
envolvidos na biossíntese de carotenóides: enfoque em *Psidium*  
*cattleianum* Sabine L. (Myrtaceae), uma espécie frutífera nativa da Mata  
Atlântica

MÁRCIA PAGNO LISBÔA

Tese submetida ao Programa de Pós-  
graduação em Genética e Biologia  
Molecular da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como requisito parcial para  
a obtenção do grau de Doutora em  
Genética e Biologia Molecular.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup>Andreia Carina Turchetto Zolet

Porto Alegre, julho de 2023

## INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

O presente trabalho foi executado no Núcleo de Genômica e Evolução de Populações Naturais (GENP), junto ao Laboratório de Genética Vegetal do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Teve como fontes financiadoras o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus amados filhos Mateus e Júlia, que foram e são minha maior motivação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço às instituições de fomento financeiro e formação de recursos humanos que possibilitaram a realização deste trabalho de doutorado, representadas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Genética e Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM/UFRGS), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Agradeço aos colegas do genp pela parceria, contribuições e apoio ao longo deste período. Um agradecimento especial à minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Andreia Carina Turchetto Zolet pelos ensinamentos, apoio e por sempre ter sido tão compreensiva.

Agradeço aos colegas, que considero grandes amigos, Aline, Monica e Adão, pelo apoio, compreensão e amizade.

Aos meus pais por todo incentivo e apoio com as crianças, nada seria possível sem essa ajuda.

Ao meu marido Jeferson que sempre esteve do meu lado me apoiando, seguimos juntos nesta caminhada.

Aos meus queridos filhos pelo carinho e amor tão importantes nessa jornada e pela compreensão por me fazer ausente em alguns momentos.

## RESUMO

Os pigmentos vegetais possuem propriedades distintas associadas aos seus cromóforos. Além de desempenharem um papel importante na atração de animais para polinização e dispersão de sementes, esses pigmentos são essenciais para as funções biológicas das plantas e desempenham um papel fundamental nos ecossistemas. Os carotenóides são compostos lipossolúveis de tetraterpenoides, responsáveis pelas cores que variam do amarelo ao vermelho em frutas, vegetais, fungos e flores. Além disso, também atuam como precursores de fitohormônios, como o ácido abscísico (ABA) e as estrigolactonas. A enzima fitoeno sintase (PSY) desempenha um papel crucial na biossíntese dos carotenóides, sendo considerada limitante para a produção desses compostos, pois ao variar sua expressão, ou atividade, irá alterar o fluxo através da via. Devido a essa característica a enzima possui grande importância com relação ao conteúdo de carotenóides dos diferentes frutos. A composição e a abundância de pigmentos naturais presentes nas frutas variam entre as espécies de plantas, determinando suas diferentes cores. A espécie *Psidium cattleianum* Sabine, pertencente à família Myrtaceae, apresenta um fato curioso, a ocorrência de plantas com frutos amarelos e plantas com frutos vermelhos. A análise de famílias gênicas em todo o genoma utiliza diversas ferramentas de bioinformática, o que permite uma forma eficaz de elucidar a estrutura e função dos membros do gene, além de facilitar a compreensão da evolução do genoma. O principal objetivo do presente estudo foi identificar, através de análises genômicas e transcriptômicas, possíveis genes envolvidos na biossíntese de carotenóides de *Psidium cattleianum* Sabine L. família Myrtaceae, verificando as possíveis diferenças moleculares existentes entre os dois morfotipos vermelho e amarelo; e ainda, investigar os mecanismos evolutivos envolvidos na diversificação gênica de uma das principais enzimas da via, fitoeno sintase (PSY). O estudo realizado com a família gênica da enzima fitoeno sintase, contribuiu para o conhecimento sobre a história evolutiva desta família, demonstrando que a prevalência de duplicatas do gene PSY observada nos genomas de plantas é um dos fatores que explica a capacidade de evoluir diferentes perfis de carotenóides associados a circunstâncias ecológicas. Os genes envolvidos na via de biossíntese de carotenóides foram identificados nos dois morfotipos de *Psidium cattleianum* por meio de análises genômicas e filogenéticas, os quais apresentaram os domínios proteicos característicos. Algumas diferenças foram encontradas entre os dois morfotipos, relacionadas à quantidade de parálogos encontrada para alguns genes da via e ao perfil de expressão. Estes resultados podem

ajudar a entender a diferença na composição de carotenóides existente entre os dois morfotipos de *P. cattleianum*, além de serem de grande relevância para pesquisas futuras que visem aprofundar os mecanismos moleculares envolvidos na via de biossíntese de carotenóides nesta espécie.

## ABSTRACT

Plant pigments possess distinct properties associated with their chromophores. In addition to playing a crucial role in attracting animals for pollination and seed dispersal, these pigments are essential for plant biological functions and play a fundamental role in ecosystems. Carotenoids, lipophilic compounds of tetraterpenoids, are responsible for the yellow to red colors observed in fruits, vegetables, fungi, and flowers. They also serve as precursors for phytohormones such as abscisic acid (ABA) and strigolactones. The enzyme phytoene synthase (PSY) plays a crucial role in carotenoid biosynthesis and is considered a rate-limiting enzyme to the production of these compounds. Variations in PSY expression or activity can alter the flow of carotenoid biosynthesis. Due to this characteristic, the enzyme holds great importance regarding the carotenoid content of different fruits. The composition and abundance of natural pigments in fruits vary among plant species, determining their distinct colors. *Psidium cattleianum* Sabine, a species belonging to the Myrtaceae family, presents an interesting fact with the occurrence of plants with yellow fruits and plants with red fruits. Genome-wide analysis of gene families employs various bioinformatics tools, providing an effective means to elucidate the structure, function, and evolutionary aspects of genes. The main objective of this study was to identify potential genes involved in carotenoid biosynthesis in *Psidium cattleianum* Sabine L., a member of the Myrtaceae family, and investigate molecular differences between the red and yellow morphotypes. Additionally, the study aimed to explore the evolutionary mechanisms underlying the diversification of the pathway key enzyme, phytoene synthase (PSY). The investigation of the phytoene synthase gene family contributed to our understanding of its evolutionary history, demonstrating that the prevalence of PSY gene duplicates observed in plant genomes is one of the factors that explain the capacity to evolve different carotenoid profiles associated with ecological circumstances. Genes involved in the carotenoid biosynthesis pathway were identified in the two morphotypes of *P. cattleianum* through genomic and phylogenetic analyses, showing the characteristic protein domains. Some differences were found between the two morphotypes, related to the quantity of paralogs found for certain genes in the

pathway and, related to the expression profile of some genes. These findings can help to understand the difference in carotenoid composition between the two morphotypes of *P. cattleianum*, and they are also of great relevance for future research aiming to deepen the molecular mechanisms involved in the carotenoid biosynthesis pathway in this species.

## SUMÁRIO

Capítulo I.....	9
INTRODUÇÃO .....	10
OBJETIVOS.....	22
Objetivo geral .....	22
Objetivos específicos.....	22
CapítuloII .....	23
ARTIGO CIENTÍFICO1 .....	24
Capítulo III.....	65
ARTIGO CIENTÍFICO2 .....	66
Capítulo IV.....	114
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	114

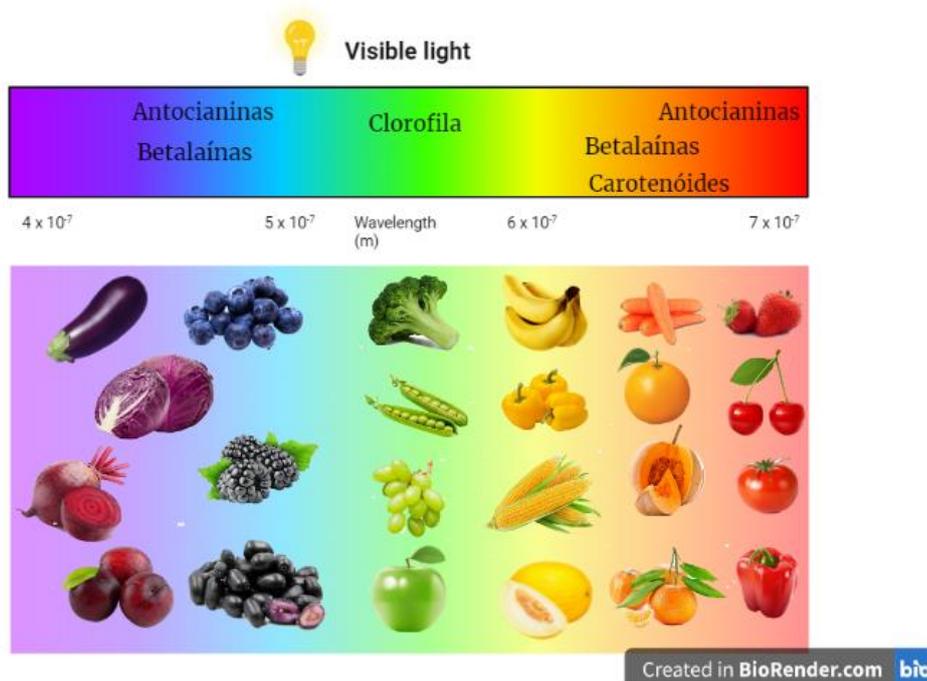
## **Capítulo I**

*INTRODUÇÃO*  
**OBJETIVOS**

## INTRODUÇÃO

### Pigmentos vegetais

Os pigmentos vegetais, geralmente, se referem a quatro principais classes bem conhecidas (Figura 1): clorofilas, carotenóides, flavonóides e betalaínas (Chen, 2015). Esses pigmentos possuem cromóforos em sua estrutura aos quais são atribuídas suas propriedades, nos carotenóides os cromóforos consistem em uma cadeia de ligações duplas conjugadas, nas antocianinas é o cátion flavilium e nas betalaínas são os derivados do ácido betalâmico (Rodríguez-Mena et al., 2023). Esses pigmentos coloridos não apenas atraem visualmente animais para polinização de flores e dispersão de sementes, mas também funcionam em processos biológicos



**Figura 1:** Espectro esquemático das cores de carotenóides, antocianinas, betalaínas e clorofilas com exemplos de frutas e vegetais ricos em cada pigmento. Cada classe de pigmento foi marcada nas zonas com o comprimento de onda aproximadamente correspondente (400-700 nm) da luz visível.

essenciais para as plantas e exercem papel coevolutivo fundamental nos ecossistemas. As clorofilas são os pigmentos verdes presente em todas as plantas terrestres e algas verdes, funcionam como pigmento primário para capturar a luz amarela e azul para realização da fotossíntese, desenvolvimento e crescimento das plantas.

## **Carotenóides**

Os carotenóides são uma grande família de tetraterpenóides lipossolúveis compostos por uma cadeia de 40 carbonos. Possuem mais de 600 membros que podem ser geralmente divididos em dois subgrupos, carotenos ( $C_{40}H_{56}$ ) e xantofilas ( $C_{40}H_{56}O_2$  ou  $C_{40}H_{56}O$ ) que são os derivados oxidados dos carotenos. Por exemplo,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e licopeno são carotenos; luteína, zeaxantina e violaxantina são xantofilas. Os carotenóides são responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho de frutas, vegetais, fungos e flores (Uenojo et al., 2007).

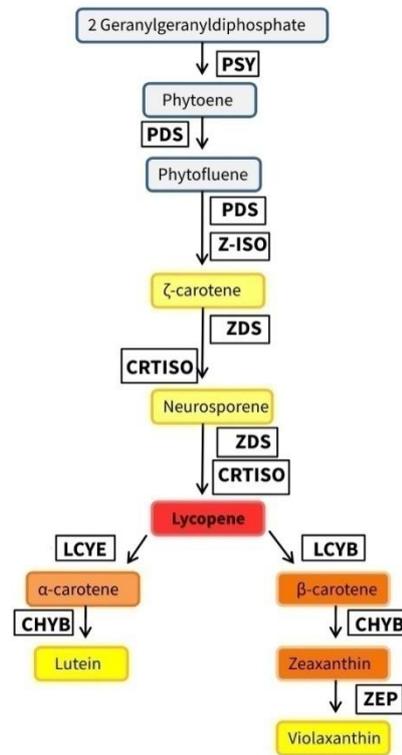
Os carotenóides também atuam como precursores para a biossíntese dos fitohormônios ácido abscísico (ABA) e estrigolactonas (SLs). Além disso, derivados dos carotenóides podem atuar como moléculas sinalizadoras em resposta ao meio ambiente e ao desenvolvimento da planta, funcionando como reguladores do crescimento (Sun et al., 2022). O hormônio ABA está envolvido em vários processos importantes nas plantas, como maturação de sementes, dessecação, dormência e germinação. Além disso, o ABA é conhecido pelo seu envolvimento na capacidade de resposta das plantas a estresses ambientais, particularmente a seca e salinidade, ele limita a perda de água através do regulamento da abertura estomática, e também afeta os padrões de expressão de mais de 1000 genes (Hoth et al., 2002; Seki et al., 2002; Leonhardt et al., 2004). As estrigolactonas (SLs) são moléculas derivadas do  $\beta$ -caroteno, que possuem múltiplas funções e influenciam diversos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo a arquitetura das raízes, o desenvolvimento dos brotos, a síntese de clorofila e a senescência. Além disso,

desencadeiam respostas de defesa contra a seca, salinidade, metais pesados, escassez de nutrientes e estresse térmico (Alvi et al., 2022).

Embora os carotenóides sejam necessários para a saúde dos animais, quase todos os animais não sintetizam carotenóides e, portanto, dependem de sua dieta para obter esses compostos. Vários animais usam carotenóides como sinais para comunicação intra-espécie (sinalização sexual, sinalização de status social e sinalização pai-filho) e inter-espécies (reconhecimento de espécies, coloração de alerta, mimetismo e eclipse) (Maoka, 2020). Nos seres humanos os carotenóides além de agirem como anti-oxidantes e como reguladores da resposta do sistema imune, desempenham papéis fundamentais como principais fontes de vitamina A, além de efeitos benéficos contra cânceres, doenças de coração e degeneração macular (Uenojo et al., 2007).

Os carotenóides são derivados de dois isômeros de isopreno, isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero alílico dimetilalil difosfato (DMAPP), que são formados após uma série de etapas subsequentes e, conseqüentemente, passam por uma série sequencial de condensações para produzir o precursor da biossíntese de carotenóides, geranylgeranyl difosfato (GGPP) (Nisar et al., 2014). Simplificadamente, a via de biossíntese dos carotenóides (Figura 2), começa com a condensação de duas moléculas de geranylgeranyl difosfato (GGPP) pela enzima fitoeno sintase (PSY) produzindo o primeiro carotenóide 15-cis-fitoeno, que é incolor. O 15-cis-fitoeno é convertido, através de uma série de dessaturações, pela enzima fitoeno dessaturase (PDS) e  $\zeta$ -caroteno dessaturase (ZDS) introduzindo ligações duplas cis e é então isomerizado pela enzima  $\zeta$ -caroteno isomerase (Z-ISO) e prolicopeno isomerase (CRTISO) convertendo a configuração cis de volta para a configuração trans produzindo, dessa forma, licopeno que apresenta coloração vermelha. Neste ponto da via ocorre uma bifurcação, podendo o licopeno ser ciclizado pela enzima licopeno  $\epsilon$ -ciclase (LCYE) ou licopeno  $\beta$ -ciclase (LCYB) que introduzirá anéis  $\epsilon$  ou  $\beta$  respectivamente, gerando  $\alpha$ -caroteno ou  $\beta$ -caroteno. Em seguida a reação é catalisada pela enzima  $\beta$ -caroteno hidroxilase (CHYB) formando luteína a partir do  $\alpha$ -caroteno e zeaxantina a partir do  $\beta$ -caroteno. A zeaxantina é epoxidada pela

enzima zeaxantina epoxidase (ZEP) para produzir anteraxantina e violaxantina.



**Figura 2:** diagrama esquemático da via metabólica simplificada dos carotenóides, indicando as enzimas responsáveis em cada etapa nos retângulos brancos

A enzima fitoeno sintase é responsável pela primeira etapa no processo de biossíntese dos carotenóides. Considerada uma enzima limitante, ao variar sua expressão, ou atividade, irá alterar o fluxo através da via. Devido a sua importância, essa enzima é amplamente estudada em plantas e outros organismos, abrangendo diferentes aspectos, como expressão, regulação, acúmulo de carotenóides, coloração, (Efremov et al., 2020; Dong et al., 2022; Liu et al., 2022; Pollack et al., 2019; Tuan et al., 2011; Ampomah-Dwamena et al., 2015; Kaur et al., 2017; Zhai et al., 2016; Álvarez et al., 2016; Jeknić et al., 2014) identificação e caracterização dos genes (Fang et al., 2022; Wang et al., 2021; Dyachenko et al., 2020; Kato et al., 2016; Han et al., 2015; Shaker et al., 2021). Visto a importância da enzima para o acúmulo de carotenóides e que estes são

essenciais para a saúde humana, pesquisas utilizando ferramentas de biotecnologia têm sido feitas com o intuito de desenvolver alimentos biofortificados. Através da introdução do gene da fitoeno sintase, plantas que não acumulam carotenóides começam a acumular e outras que acumulam em pequenas quantidades começam a acumular mais (Beyer et al., 2002; Yao et al., 2018; Houhou et al., 2022; Mishiba et al., 2020; Paul et al., 2017). A família gênica da fitoeno sintase varia muito, em número, entre as espécies de plantas. Estes diferentes membros da PSY também têm a característica de expressão tecido-específica (Welsch et al., 2008; Li et al., 2009; Dibari et al., 2012; Ahrazem et al., 2019; Dhandapani et al., 2017). Apesar de existirem diversos estudos sobre esta enzima extremamente importante, poucos são referentes à questão evolutiva em plantas (Dibari et al., 2012; Han et al., 2015; Stauder et al., 2018). Portanto, estudos que contribuam na compreensão relacionada à evolução da família gênica fitoeno sintase (PSY) são de grande relevância.

### **Diversidade da composição de pigmentos em frutos carnosos**

As frutas contêm uma variedade de pigmentos naturais, que são metabólitos secundários com importantes atividades biológicas. Além disso, a cor da fruta também é uma importante característica que determina a escolha dos consumidores (Lu et al., 2021).

A composição de pigmentos presentes e a sua abundância variam muito de acordo com a espécie de planta. A Tabela 1 apresenta alguns exemplos de plantas de diferentes espécies e suas diversas composições de pigmentos (Lu et al., 2021). As diferentes composições conferem uma variedade de cores existentes entre as frutas e que variam também de acordo com o estágio de maturação.

Os frutos provenientes das plantas da família Myrtaceae geralmente apresentam altos níveis de compostos bioativos como carotenóides, compostos fenólicos e compostos voláteis importantes (Donado-Pestana et al., 2018), que os elegem como bons candidatos para serem comercializados in natura ou para a fabricação de produtos alimentícios, visto seus valores nutritivos e mediante suas

propriedades podem atuar como antioxidantes naturais, protegendo o organismo de doenças crônicas e do envelhecimento precoce (Pereira et al., 2012, Seraglio et al., 2018).

**Tabela 1:** diferentes espécies de plantas frutíferas e a diversa composição pigmentar de seus respectivos frutos

Espécie	Família	Nome popular	Carotenoides	Flavonóides				Referências
				Flavononas	Flavonóis	Flavonas	Antocianinas	
<i>Solanum lycopersicum</i>	Solanaceae	tomate	licopeno luteína α-caroteno β-caroteno	naringenina	camferol quercetina			Li et al., 2012 Fattore et al., 2016
<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	uva			quercetina camferol		delfinidina malvidina cianidina petunidina peonidina	Tagliazucchi et al., 2010 Wolfe et al., 2008 Avidzba et al., 2016 Xia et al., 2010 Pastrana-Bonilla et al., 2003 Poudel et al., 2008
<i>Vaccinium corymbosum</i>	Ericaceae	mirtilo			quercetina mircetina		cianidina peonidina delfinidina malvidina petunidina	Wang et al., 2017 de Souza et al., 2014 Cásedas et al., 2017 Haytowitz et al., 2021
<i>Rubus fruticosus</i>	Rosaceae	amora-silvestre			camferol quercetina mircetina		pelargonidina cianidina peonidina	de Souza et al., 2014 Haytowitz et al., 2021 Sellappan et al., 2002 Schulz et al., 2019
<i>Fragaria ananassa</i>	Rosaceae	morango			camferol quercetina		pelargonidina cianidina peonidina	Wolfe et al., 2008 de Souza et al., 2014 Haytowitz et al., 2021 Aaby et al., 2007 Van De Velde et al., 20013
<i>Prunus serotina</i>	Rosaceae	cerejeira-negra			quercetina mircetina camferol		cianidina peonidina pelargonidina	Wolfe et al., 2008 de Souza et al., 2014 Serrano et al., 2005 Kirakosyan et al., 2009
<i>Prunus persica</i>	Rosaceae	pêssego	β-criptoxantina β-caroteno		quercetina isorhamnetina camferol		cianidina	Wolfe et al., 2008 Liao et al., 2019 Gil et al., 2002
<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	ameixeira-japonesa	β-criptoxantina β-caroteno	eriodictiol	quercetina mircetina		cianidina	Wolfe et al., 2008 Gil et al., 2002 Arion et al., 2014 Kim et al., 2012
<i>Prunus armeniaca</i>	Rosaceae	damasco	β-criptoxantina luteína β-caroteno γ-carotene zeaxantina		rutina quercetina 3-rutinosídeo camferol 3-ramnosil-hexosídeo quercetina 3-acetil-hexosídeo		cianidina 3-rutinosídeo cianidina 3-glicosídeo	Zhang et al., 2019 Leccese et al., 2012 Xi et al., 2019
gênero <i>Citrus</i> família Rutaceae	Rutaceae	frutas cítricas	violaxantina anteraxantina luteína zeaxantina β-criptoxantina β-caroteno α-caroteno	naringina neoesperidina neoriocitrina narirutina esperidina naringenina poncirina didimina	camferol rutina quercetina mircetina	nobiletina tangeretina sinensetina diosmina		Singh et al., 2020 Wolfe et al., 2008 Chen et al., 2017 Ernawita et al., 2016
<i>Malus pumila</i>	Rosaceae	maçã			rutina avicularina		cianidina	Wolfe et al., 2008 Kschonsek et al., 2018 Wang et al., 2015

É bem estabelecido que o consumo de frutas e hortaliças está relacionado a uma redução na incidência de certos tipos de câncer e a efeitos benéficos sobre doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e catarata, o que proporciona uma melhoria na qualidade de vida da população (Steinmetz e Potter, 1996; Donado-Pestana et al., 2018, Pereira et al., 2021). Portanto, estudar as vias moleculares e os processos evolutivos envolvidos na produção desses compostos é importante tanto na visão ecológica quanto biotecnológica.

### **Família Myrtaceae e a espécie *Psidium cattleianum***

Myrtaceae é uma família composta por 126 gêneros e ~5800 (WCVP, 2021) espécies de plantas, ocorrendo principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Nas regiões Neotropicais ocorrem quase que exclusivamente espécie da tribo Myrteae, sendo este grupo predominante na Mata Atlântica brasileira. Myrteae é a tribo mais rica em espécies, incluindo 51 gêneros e ~2500 espécies, representando aproximadamente metade da diversidade de espécies da família (Lucas et al., 2007; Vasconcelos et al., 2017; WCVP, 2021). As espécies da família Myrtaceae, no geral, são fontes de importantes produtos, como óleos essenciais, corantes, compostos fenólicos e antioxidantes. Além do que apresentam grande importância ecológica relacionada à disponibilidade dos frutos para os dispersores naturais. O gênero *Psidium* L. é o quarto gênero mais rico em espécies da tribo Myrteae (Proença et al. 2022), ocorrendo de 30°N (Estado de Sonora, México) a 38°S (Província de Buenos Aires, Argentina), incluindo as Índias Ocidentais, bem como dois Arquipélagos no Pacífico, Galápagos e Revillagigedo Ilhas (Landrum, 2017; Proença et al. 2022). Possui grande importância ecológica e econômica. Filogeneticamente é um gênero monofilético com quatro clados principais reconhecidos como seções. A seção *Psidium* (dez espécies), à qual pertence *P. guajava*; seção *Obversifolia* (seis espécies; restrita à Mata Atlântica brasileira), que inclui *P. cattleianum*; seção *Apertiflora* (31 espécies) e seção *Mitrantes* (26 espécies) (Proença et al., 2022). O gênero inclui cerca de 100 espécies de árvores e arbustos, com destaque para a goiabeira (*Psidium guajava* L.) e o araçá (*P. Cattleianum*),

plantas distribuídas geograficamente em diversas regiões do Brasil (da Veiga et al., 2022).

*Psidium cattleianum* é uma espécie arbórea, perene e frutífera, com altura que varia entre 3 e 6 m, que cresce em um ambiente úmido e luminoso. Em climas tropicais, é freqüentemente encontrado crescendo em lugares mais altos, onde a temperatura média não é muito fria. A variedade amarela cresce em elevações ligeiramente mais baixas (Biegelmeyer et al., 2011). Apresenta extensa área de ocorrência na costa atlântica brasileira, desde a Bahia até o nordeste do Uruguai (Figura 3).



**Figura 3:** área de ocorrência do araçá na América do Sul. Dados obtidos através do site Global Biodiversity Information Facility - GBIF.org (26 May 2023) GBIF Occurrence Download <https://doi.org/10.15468/dl.cnbzxb>

O sistema de cruzamento predominante na espécie de *P. cattleianum* é a polinização por abelhas (Hymenoptera). O gênero *Psidium* produz muitas sementes por fruto e apresenta uma ampla variedade de dispersores. Em *P. cattleianum* os principais dispersores são: aves, formigas, morcegos, macacos e ungulados (Gressler et al., 2006). Os diferentes tipos de frugívoros selecionam as frutas dependendo de suas cores (Willson and Melampy, 1983).

O araçazeiro possui frutos com tamanho que pode variar entre 2,2cm e 5cm de diâmetro e caracterizam-se por serem suculentos, com uma polpa translúcida com número grande de sementes, sendo a colheita entre janeiro e março. Os frutos, na sua maioria, são amarelos ou vermelhos (Figura 4), o que sugere que a espécie possa ser dividida em dois morfotipos denominados araçá-amarelo e araçá-vermelho (Rocha et al., 2008). O araçazeiro vermelho tem uma folha mais arredondada, enquanto que o amarelo tem uma folha mais alongada e lanceolada (Souza e Sobral 2007) (Figura 4). No geral, em 100g de ambos morfotipos de araçá in natura há 81,73–84,9g de água, 0,75–1,03g de proteína, 0,63–1,50g de minerais, 4,32–10,01g de carboidratos, 0,42–0,55g de lipídeos, 3,87–6,14g de fibras e 26,8kcal de energia (Pereira et al., 2018).



**Figura 4:** diferente coloração entre os frutos dos dois morfotipos de *Psidium cattleianum* e diferentes morfologias das folhas.

O araçá possui um alto teor de compostos fenólicos, que são metabólitos

secundários, o que confere à espécie uma alta capacidade antioxidante. Esses compostos são capazes de proteger os sistemas biológicos contra o excesso de radicais livres. O araçá apresenta características benéficas devido a sua composição e propriedades biológicas. Um estudo mostrou que o araçá pode melhorar os níveis de glicose no sangue, reduzir a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e os níveis de colesterol total no sangue e diminuir a deposição de gordura no fígado quando administrado na dieta de ratos (Nora et al., 2014). Ainda, possui um alto teor de vitamina C, o consumo de 15g do fruto do araçá fornece mais do que quatro vezes a quantidade diária recomendada de vitamina C para um adulto (Pereira et al., 2018). É, também, um grande promissor no combate contra a obesidade pois age inibindo a enzima pancreática lipase e consequentemente a absorção de gordura (Pereira et al., 2021).

Os dois morfotipos, conhecidos como var. *cattleianum* (frutos vermelhos) e var. *lucidum* (frutos amarelos) (Proença et al., 2022), apresentam diferença entre suas composições (Tabela 2): os ácidos oléico e palmítico estão presentes em maior quantidade no genótipo amarelo do que no genótipo vermelho (Biegelmeier et al., 2011). Quanto à composição de fitoquímicos, os dois morfotipos compartilham um perfil qualitativo semelhante entre si, mas quando quantificados estudos revelaram um maior acúmulo de antocianinas nos frutos vermelhos em comparação aos frutos amarelos (Fetter et al., 2010; Vinholes et al., 2015; Pereira et al., 2017). O perfil de óleos essenciais também é diferente entre os morfotipos vermelho e amarelo, assim como a quantidade de genes, da família terpeno sintase, em cada um (Canal et al., 2023). A semente do Araçá contém ácido linoleico como principal ácido graxo nas duas variedades amarela e vermelha, com  $61,01\% \pm 2,51\%$  e  $75,42\% \pm 3,50\%$ , respectivamente. O ácido oléico está presente em maior quantidade no amarelo ( $14,99\% \pm 0,88\%$ ) do que no vermelho (RG) ( $10,83\% \pm 0,99\%$ ). Diferenças quantitativas também foram observadas para o ácido palmítico, onde o amarelo tem  $19,92\% \pm 0,26\%$ , mais que o dobro do percentual observado no vermelho ( $9,12\% \pm 2,12\%$ ) (Biegelmeier et al., 2011). Os níveis de carotenóides totais é praticamente o mesmo nos dois morfotipos mas, possuem composição distinta entre os diferentes tipos de

carotenóides, sendo a luteína o maior componente no morfotipo amarelo (Pereira et al., 2012) e as trans- $\beta$ -cryptoxantinas o maior componente do morfotipo vermelho (Silva et al., 2014). O conteúdo total de componentes fenólicos e flavonóides apresenta-se maior no morfotipo vermelho (Bieglmeyer et al., 2011). Apesar de os dois morfotipos apresentarem diferenças morfológicas e nas suas composições, são considerados a mesma espécie.

**Tabela 2:** diferentes composições encontradas na literatura entre os dois morfotipos

Componente	vermelho	amarelo	Referência	
Vitamina C	200mg	242mg	Pereira et al 2018	
Carotenóides totais	364.4–1134 $\mu$ g	389 - 1084 $\mu$ g	Pereira et al 2018	
Polifenóis	501 mg 100 g <sup>-1</sup>	292 mg 100 g <sup>-1</sup>	Bieglmeyer et al 2011	
Flavonoides	100 mg 100 g <sup>-1</sup>	35 mg 100 g <sup>-1</sup>	Bieglmeyer et al 2011	
Antocianinas	presente	ausente	Bieglmeyer et al 2011, Mallman et al 2020	
% do total de ácidos graxos	ácido palmítico	9.12 $\pm$ 2.1213	19.92 $\pm$ 0.2616	Bieglmeyer et al., 2011
	ácido esteárico	4.63 $\pm$ 0.3960	3.57 $\pm$ 0.6223	Bieglmeyer et al., 2011
	ácido oléico	10.83 $\pm$ 0.9899	14.99 $\pm$ 0.8839	Bieglmeyer et al., 2011
	ácido linoléico	75.42 $\pm$ 3.5002	61.01 $\pm$ 2.5102	Bieglmeyer et al., 2011

## Análise genômica e transcriptômica

A análise completa do transcriptoma tem importância fornecendo os primeiros passos para a caracterização funcional e anotação de genes/genomas previamente apresentados pelo sequenciamento de DNA. Além disso, ajuda a mapear as conexões entre diferentes genes e proteínas, para assim entender as funções celulares, crescimento/desenvolvimento e sistemas biológicos (Jiang et al., 2015). Através do transcriptoma é possível detectar a abundância de todos os transcritos em vários tipos de células, tecidos e órgãos com variação fenotípica e pode ser utilizado para decifrar a função do gene, regulação transcricional e motivos cis-regulatórios.

Entre todos os dados ômicos (genômicos, transcriptômicos, proteômicos e

metabolômicos) o transcriptoma fornece a informação mais direta para o perfil de expressão gênica em tempo real e é o mais comumente usado para identificar genes funcionais nas vias biossintéticas. Os transcriptomas podem ser montados de novo sem outras informações ou com base em uma sequência genômica de referência. A sequência de referência pode ser sequências de transcriptoma intimamente relacionadas ou uma sequência de genoma do mesmo organismo ou de uma espécie intimamente relacionada. Primeiro, os unigenes, um conjunto de candidatos válidos e diversificados para o estudo da modificação do esqueleto químico e evolução do metabolismo secundário, podem ser obtidos por análise de perfis de transcriptoma híbrido-seq (Wang and Huo, 2022).

Hoje em dia, RNA-Seq é o método de escolha para estudar a expressão gênica e identificar novas espécies de RNA. Comparado aos métodos baseados em microarranjo de DNA, o RNA-Seq oferece menos ruído de fundo e uma faixa dinâmica maior para detecção. Mais importante, o RNA-Seq revela diretamente a identidade da sequência, crucial para a análise de genes desconhecidos e novas isoformas de transcrição (Hrdlickova et al., 2017).

A tecnologia genômica vem transformando completamente a pesquisa na área vegetal. Devido às plataformas de sequenciamento de próxima geração, enormes quantidades de dados genômicos estão sendo coletados e armazenados em bancos de dados públicos. A facilidade de acesso a esses bancos de dados acelerou o processo para decifrar funções gênicas e estudos de identificação em todo o genoma (GWI – Genome Wide Identification) foram publicados nos últimos anos para várias plantas de importância agrícola e econômica incluindo várias espécies da família Myrtaceae (Waschburger et al., 2022; Canal et al., 2023; Du et al., 2022; Yuan et al., 2022; Shirazi et al., 2023). A análise de família gênica em todo o genoma aplica diferentes ferramentas de bioinformática, explorando funções gênicas, vias hormonais e de desenvolvimento, processos biológicos, estruturas gênicas, padrões de expressão e respostas de plantas a estresses bióticos e abióticos. Essas análises *in silico* fornecem uma maneira eficaz de elucidar a estrutura e a função dos membros do gene e facilita a compreensão da evolução do genoma (Safder et al., 2022).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Identificar, através de análises genômicas e transcriptômicas, possíveis genes envolvidos na biossíntese de carotenóides de *Psidium cattleianum* Sabine L. família Myrtaceae, verificando as possíveis diferenças moleculares existentes entre os dois morfotipos vermelho e amarelo; e ainda, investigar os mecanismos evolutivos envolvidos na diversificação gênica de uma das principais enzimas da via, fitoeno sintase (PSY).

### **Objetivos específicos**

- a) Identificar os principais genes envolvidos na biossíntese de carotenóides em *Psidium cattleianum* através da análise comparativa do genoma dos dois morfotipos com sequências gênicas de outras espécies de plantas em que os genes já foram previamente identificados e caracterizados;
- b) Verificar o perfil transcricional dos genes envolvidos na biossíntese de carotenóides, através da análise *in silico* de expressão diferencial, com dados de transcriptoma de folhas, frutos maduros e verdes dos dois morfotipos de *P.cattleianum*;
- c) Investigar os mecanismos evolutivos envolvidos na diversificação gênica de uma das principais enzimas da via de biossíntese de carotenóides, fitoeno sintase (PSY), de diferentes organismos, através de análise comparativa de dados genômicos e transcriptômicos, armazenados em bancos de dados públicos.

## Capítulo IV

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o avanço das tecnologias de sequenciamento de próxima geração, uma grande quantidade de dados genômicos tem sido gerada e armazenada em bancos de dados públicos. Tais plataformas fornecem um acesso fácil às sequências de uma ampla variedade de organismos, possibilitando que pesquisadores de todo o mundo utilizem essas informações em suas investigações. Uma das aplicações mais relevantes desses bancos de dados é a identificação de genes e a atribuição de funções genômicas. Ao identificar genes específicos, os pesquisadores podem inferir suas funções biológicas e compreender melhor os processos moleculares, metabólicos e evolutivos.

Os carotenóides exercem papel essencial tanto na parte ecológica, evolutiva e biológica das plantas como na saúde humana. O presente trabalho utilizou ferramentas de bioinformática e bancos de dados públicos para explorar aspectos genéticos e evolutivos da via de biossíntese de carotenóides nos morfotipos vermelho e amarelo de *Psidium cattleianum*. Primeiramente, trabalhamos para entender melhor a evolução da família gênica da enzima fitoeno sintase (PSY) e os aspectos envolvidos na sua divergência funcional, devido à importância que esta enzima exerce no controle do acúmulo de carotenóides, sendo que a diferença na composição, tanto em termos de quantidade quanto de tipos diferentes de carotenóides, está diretamente relacionada à coloração dos frutos. Através do mapeamento de ganhos e perdas dos genes da PSY na árvore filogenética resultante, obtivemos informações sobre o processo que levou à diversificação desta família gênica, ajudando a

entender a capacidade de evoluir diferentes perfis de carotenóides, que podem estar associados a circunstâncias ecológicas. Confirmamos que a maioria das espécies possui mais de um gene PSY e que a maioria das duplicações ocorreu após a diversificação das angiospermas. Os resultados mostraram um padrão de duplicação consistente com a duplicação completa do genoma (WGD), indicando que tais eventos podem ser a principal fonte de duplicação do gene PSY.

Em um segundo momento, os principais genes envolvidos na via de biossíntese de carotenóides foram identificados através de análises comparativas utilizando dados de genoma e transcriptoma dos morfotipos vermelho e amarelo de *Psidium Cattleianum*, previamente obtidos por trabalhos anteriores em nosso grupo de pesquisa, os quais também estão relacionados com a composição pigmentar (antocianinas) na mesma espécie. O interesse em investigar as questões relacionadas aos pigmentos dentro desta espécie se deve ao fato de encontrarmos, além de outras diferenças, plantas com frutos vermelhos e plantas com frutos amarelos. A partir destes dados foram inferidas árvores filogenéticas incluindo sequências já caracterizadas de outras espécies para cada gene da via, assim pudemos fazer a predição dos genes por similaridade das sequências, verificando a presença dos motivos e domínios característicos e suas relações evolutivas. Através da comparação dos dados de transcriptoma de folhas, frutos verdes e maduros, foi verificado o padrão de expressão e a existência de expressão diferencial para cada gene, onde pudemos observar que alguns destes apresentam diferença no perfil de expressão entre os dois morfotipos. As informações obtidas com estes resultados são de grande importância visto a escassez de estudos genômicos

com espécies nativas, especificamente *Psidium cattleianum*, dos quais pouco já foi explorado com relação aos seus dados genômicos. E ainda, tais informações serão de grande utilidade para aumentar o entendimento quanto aos mecanismos moleculares envolvidos na via de biossíntese de carotenóides em *P. cattleianum* através de investigações mais aprofundadas como a identificação de genes de regulação e regiões promotoras dos genes estruturais para compreender a regulação gênica desta via nesta espécie.

## REFERÊNCIAS

Álvarez D, Voß B, Maass D, Wüst F, Schaub P, Beyer P, Welsch R (2016) Carotenogenesis Is Regulated by 5'UTR-Mediated Translation of Phytoene Synthase Splice Variants. *Plant Physiol.* 172(4):2314-2326

Alvi A F, Sehar Z, Fatma M, Masood A, Khan N A (2022) Strigolactone: An Emerging Growth Regulator for Developing Resilience in Plants. *Plants.* 11(19):2604.

Ampomah-Dwamena C, Driedonks N, Lewis D, Shumskaya M, Chen X, Wurtzel ET, Espley RV, Allan AC (2015) The Phytoene synthase gene family of apple (*Malus x domestica*) and its role in controlling fruit carotenoid content. *BMC Plant Biol* 15:185

Beyer P, Al-Babili S, Ye X, Lucca P, Schaub P, Welsch R, Potrykus I (2002) Golden Rice: introducing the beta-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. *J Nutr* 132(3):506S-510S.

Canal D, Escudero F L G, Mendes L A (2023) Genome-wide identification, expression profile and evolutionary relationships of TPS genes in the neotropical fruit tree species *Psidium cattleianum*. *Sci Rep* (13)3930

Dhandapani R, Singh VP, Arora A, Bhattacharya RC, Rajendran A (2017) Differential accumulation of  $\beta$ -carotene and tissue specific expression of phytoene synthase (MaPsy) gene in banana (*Musa sp*) cultivars. *J Food Sci Technol.* 54(13):4416-4426.

Dibari B, Murat F, Chosson A (2012) Deciphering the genomic structure, function and evolution of carotenogenesis related phytoene synthases in grasses. *BMC Genomics* 6;13:221

Donado-Pestana C M, Moura M H C, de Araujo R L, Santiago G L, Barros H R M, Genovese M I (2018) Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Curr. Opin. Food Sci* 19:42-49

Dong D, Zhao Y, Teng K, Tan P, Liu Z, Yang Z, Han L, Chao Y (2022) Expression of *ZjPSY*, a Phytoene Synthase Gene from *Zoysia japonica* Affects Plant Height and Photosynthetic Pigment Contents. *Plants* 11(3):395.

Du K, Xia Y, Zhan D, Xu T, Lu T, Yang J, Kang X (2022) Genome-Wide Identification of the *Eucalyptus urophylla* GATA Gene Family and Its Diverse Roles in Chlorophyll Biosynthesis. *Int J Mol Sci.* 23(9):5251.

Dyachenko EA, Filyushin MA, Efremov GI, Dzhos EA, Shchennikova AV, Kochieva EZ (2020) Structural and functional features of phytoene synthase isoforms PSY1 and PSY2 in pepper *Capsicum annum* L. cultivars. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektivii* 24(7):687-696

Efremov GI, Slugina MA, Shchennikova AV, Kochieva EZ (2020) Differential

Regulation of Phytoene Synthase PSY1 During Fruit Carotenogenesis in Cultivated and Wild Tomato Species (*Solanum* section Lycopersicon). *Plants* 9(9):1169

Fang X, Gao P, Luan F, Liu S (2022) Identification and Characterization Roles of Phytoene Synthase (PSY) Genes in Watermelon Development. *Genes* 13(7):1189.

Fattore M, Montesano D, Pagano E, Teta R, Borrelli F, Mangoni A, Seccia S, Albrizio S (2016) Carotenoid and flavonoid profile and antioxidant activity in "Pomodoro Vesuviano" tomatoes. *J. Food Compos. Anal.* 53:61–68.

Fetter MR, Vizzotto M, Corbelini DD and Gonzales TN (2010) Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleyanum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS. *Braz J Food Technol* 3:92-95.

Flora Brasiliensis (2023) Família Myrtaceae: classificação segundo a Flora Brasiliensis. Disponível em: [http://florabrasiliensis.cria.org.br/search?taxon\\_id=86](http://florabrasiliensis.cria.org.br/search?taxon_id=86). (Acesso em: 25/05/2023). GBIF. org (26 May 2023) GBIF Occurrence Download <https://doi.org/10.15468/dl.cnbzxb>

Gressler E, Pizo M A, Morellato L P C (2006) Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Rev Bras Bot*, 29(4), 509-530.

Han Y, Zheng QS, Wei YP, Chen J, Liu R, Wan HJ (2015) In silico identification and analysis of phytoene synthase genes in plants. *Genet Mol Res* 14(3):9412-22.

Hoth S, Morgante M, Sanchez JP, Hanafey MK, Tingey SV, Chua NH (2002) Genome-wide gene expression profiling in *Arabidopsis thaliana* reveals new targets of abscisic acid and largely impaired gene regulation in the *abi1-1* mutant. *J Cell Sci.* 115(24):4891-900.

Houhou F, Martí M, Cordero T, Aragonés V, Sáez C, Cebolla-Cornejo J, Pérez de Castro A, Rodríguez-Concepción M, Picó B, Daròs JA (2022) Carotenoid fortification of zucchini fruits using a viral RNA vector. *Biotechnol J.* 17(5):e2100328

Hrdlickova R, Toloue M, Tian B (2017) RNA-Seq methods for transcriptome analysis. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 8(1):10.1002/wrna.1364.

Jeknić Z, Jeknić S, Jevremović S, Subotić A, Chen TH (2014) Alteration of flower color in *Iris germanica* L. 'Fire Bride' through ectopic expression of phytoene synthase gene (*crtB*) from *Pantoea agglomerans*. *Plant Cell Rep* 33(8):1307-21

Kato S, Takaichi S, Ishikawa T, Asahina M, Takahashi S, Shinomura T (2016) Identification and functional analysis of the geranylgeranyl pyrophosphate

synthase gene (*crtE*) and phytoene synthase gene (*crtB*) for carotenoid biosynthesis in *Euglena gracilis*. *BMC Plant Biol.* 5;16:4.

Kaur N, Pandey A, Shivani, Kumar P, Pandey P, Kesarwani AK, Mantri SS, Awasthi P, Tiwari S (2017) Regulation of Banana Phytoene Synthase (MaPSY) Expression, Characterization and Their Modulation under Various Abiotic Stress Conditions. *Front Plant Sci.* 8:462.

Kim IJ, Ko KC, Kim CS, Chung WI (2001) Isolation and characterization of cDNAs encoding 13-carotene hydroxylase in Citrus. *Plant Sci* 161:1005-1010

Landrum LR (2017) The genus *Psidium* (Myrtaceae) in the State of Bahia, Brazil. *Canotia* 13:1–101.

Leonhardt N, Kwak JM, Robert N, Waner D, Leonhardt G, Schroeder JI (2004) Microarray expression analyses of Arabidopsis guard cells and isolation of a recessive abscisic acid hypersensitive protein phosphatase 2C mutant. *Plant Cell* 16(3):596-615.

Li F, Tsfadia O, Wurtzel ET (2009) The phytoene synthase gene family in the Grasses: subfunctionalization provides tissue-specific control of carotenogenesis. *Plant Signal Behav.* 4(3):208-11

Li H, Deng Z, Liu R, Loewen S, Tsao R (2012) Ultra-performance liquid chromatographic separation of geometric isomers of carotenoids and antioxidant activities of 20 tomato cultivars and breeding lines. *Food Chem.* 132:508–517.

Liao Y, Smyth GK, Shi W (2014) featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics* 30(7):923-30.

Liu S, Gao Z, Wang X, Luan F, Dai Z, Yang Z, Zhang Q (2022) Nucleotide variation in the phytoene synthase (*CIPsy1*) gene contributes to golden flesh in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Theor Appl Genet* 135(1):185-200.

Lu W, Shi Y, Wang R, Su D, Tang M, Liu Y, Li Z (2021) Antioxidant Activity and Healthy Benefits of Natural Pigments in Fruits: A Review. *Int J Mol Sci* 22(9):4945.

Lucas EJ, Harris SA, Mazine FF, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Telford A, Gasson PE, Chase MW (2007) Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). *Taxon* 56:1105–1128.

Mallmann LP, Tischer B, Vizzotto M, Rodrigues E, Manfroi V (2020) Comprehensive identification and quantification of unexploited phenolic compounds from red and yellow araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) by LC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Res Int.* 131:108978

Maoka T (2020) Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med* (74):1–16

Mishiba KI, Nishida K, Inoue N, Fujiwara T, Teranishi S, Iwata Y, Takeda S, Koizumi N (2020) Genetic engineering of eggplant accumulating  $\beta$ -carotene in fruit. *Plant Cell Rep.* 39(8):1029-1039.

Nora C D, Danelli D, Souza L F, Rios A de O, Jong E V , Flôres S H (2014) Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 50(3):483–491

Paul JY, Khanna H, Kleidon J, Hoang P, Geijskes J, Daniells J, Zaplin E, Rosenberg Y, James A, Mlalazi B, Deo P, Arinaitwe G, Namanya P, Becker D, Tindamanyire J, Tushemereirwe W, Harding R, Dale J (2017) Golden bananas in the field: elevated fruit pro-vitamin A from the expression of a single banana transgene. *Plant Biotechnol J.* 15(4):520-532.

Pereira E S, Vinholes J, Franzon R C, Dalmazo G, Vizzotto M, Nora L (2018) *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. *Food Chemistry*, (258):95-103.

Pereira E S, Vinholes JR, Camargo TM, Nora F R, Crizel R L, Chaves F, Nora L, Vizzoto M (2021) Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine): Bioactive compounds, antioxidant activity and pancreatic lipase inhibition. *Ciênc. Rural* 51(11).

Pereira ES, Vizzotto M, Ribeiro J, Raphaelli CO, Camargo TM, Araújo VF and Franzon R (2017) Bioactive compounds and antioxidant potential of arrack genotypes evaluated in two productive cycles. 4<sup>a</sup> Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa, Urcamp, Bagé, Rs, Brazil, 11 pp.

Pereira M C, Steffens R S, Jablonski A, Hertz P F, Rios A O, Vizzotto M, Flôres S H (2012) Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the myrtaceae family. *J. Agric. Food Chem*, 60(12):3061-3067

Pollack AJ, Gong X, Pollack JR. A (2019) common phytoene synthase mutation underlies white petal varieties of the California poppy. *Sci Rep* 9(1):11615

Proença C E B, Tuler A C, Lucas E J, Vasconcelos T N D C, de Faria J E Q, Staggemeier V G, de-Carvalho P S, Forni-Martins E R, Inglis P W, da Mata L R, da Costa I R (2022) Diversity, phylogeny and evolution of the rapidly evolving genus *Psidium* L. (Myrtaceae, Myrteae). *Ann Bot.* 129(4):367-388.

Rodríguez-Mena A, Ochoa-Martínez LA, González-Herrera SM, Rutiaga-Quiñones OM, González-Laredo RF, Olmedilla-Alonso B (2023) Natural pigments of plant origin: Classification, extraction and application in foods. *Food Chem.* 398:133908.

Safder I, Shao G, Sheng Z, Hu P, Tang S (2022) Genome-wide identification studies - A primer to explore new genes in plant species. *Plant Biol (Stuttg)*. 24(1):9-22.

Seki M, Ishida J, Narusaka M, Fujita M, Nanjo T, Umezawa T, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K (2002) Monitoring the expression pattern of around 7,000 Arabidopsis genes under ABA treatments using a full-length cDNA microarray. *Funct Integr Genomics*. 2(6):282-91

Seraglio SKT, Schulz M, Nehring P, Della Betta F, Valese AC, Daguer H, Gonzaga LV, Fett R, Costa ACO (2018) Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. *Food Chem* 15;239:649-656.

Shaker S, Morowvat MH, Ghasemi Y (2021) Bioinformatics Analysis and Identification of Phytoene Synthase Gene in Microalgae. *Recent Pat Biotechnol*. 15(3):216-226.

Shirazi Z, Khakdan F, Rafiei F, Balalami MY, Ranjbar M (2023) Genome-wide identification and expression profile analysis of metal tolerance protein gene family in *Eucalyptus grandis* under metal stresses. *BMC Plant Biol*. 23(1):240.

Souza LP and Sobral MDG (2007) Morfotipos do Araçazeiro, *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) no Estado do Paraná. In: Pedrosa-Macedo JH, Dalmolin A and Smith CW (eds) *O Araçazeiro: Ecologia e Controle Biológico*. FUPEF, Curitiba pp 19-28.

Stauder R, Welsch R, Camagna M, Kohlen W, Balcke GU, Tissier A and Walter MH (2018) Strigolactone levels in dicot roots are determined by an ancestral symbiosis-regulated clade of the PHYTOENE SYNTHASE gene family. *Front Plant Sci* 9:255.

Steinmetz K A, Potter J D (1996) Vegetables, fruits, and cancer prevention: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* 96:1027–1039

Sun T, Rao S, Zhou X (2022) Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Mol Horticulture* 2, 3

Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, Conte A (2010) In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem*. 120:599–606.

Tuan PA, Kim JK, Park NI, Lee SY, Park SU (2011) Carotenoid content and expression of phytoene synthase and phytoene desaturase genes in bitter melon (*Momordica charantia*). *Food Chem* 126(4):1686-92.

Vasconcelos TNC, Proença CEB, Ahmad B, Aguilar DS, Aguilar R, Amorim BS, Campbell K, Costa IR, De-Carvalho PS, Faria JEQ, Giarretta A, Kooij PW, Lima DF, Mazine FF, Peguero B, Prenner G, Santos MF, Soewarto J, Wingler A, Lucas EJ (2017) Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: Increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. *Mol Phylogenet Evol* 109:113-137.

Uenojo M, Maróstica Junior M R, Pastore G M (2007) Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, 30(3): 616–622.

Vinholes J, Lemos G, Konzgen E, Franzon RC and Vizzotto M (2015) Atividade antiglicêmica e antioxidante em araçá amarelo e vermelho. In: 10<sup>o</sup> Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e o Caribe, Araçá, p. 275.

Wang Z, Zhang L, Dong C, Guo J, Jin L, Wei P, Li F, Zhang X, Wang R (2021) Characterization and functional analysis of phytoene synthase gene family in tobacco. *BMC Plant Biol* 21(1):32.

Wang N, Huo YX (2022) Using genome and transcriptome analysis to elucidate biosynthetic pathways. *Curr Opin Biotechnol* 75:102708.

Waschburger EL, Guzman F, Turchetto-Zolet AC (2022) Genome-Wide Identification and Analysis of *DOF* Gene Family in *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Genes* 13(12):2235.

WCVP. 2021. *World Checklist of Vascular Plants, version 2.0*. Kew: Facilitated by the Royal Botanic Gardens. Available at: <http://wcvp.science.kew.org/>

Welsch R, Wüst F, Bär C, Al-Babili S, Beyer P (2008) A third phytoene synthase is devoted to abiotic stress-induced abscisic acid formation in rice and defines functional diversification of phytoene synthase genes. *Plant Physiol.* 147(1):367-80.

Willson M F and Melampy M N (1983) The Effect of Bicolored Fruit Displays on Fruit Removal by Avian Frugivores. *Ecography (Cop.)* 41:27–31

Wolfe KL, Kang X, He X, Dong M, Zhang Q, Liu RH (2008) Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 56:8418–8426.

Xia H, Zhou Y, Lin Z, Guo Y, Liu X, Wang T, Wang J, Deng H, Lin L, Deng Q, Lv X, Xu K, Liang D (2022) Characterization and functional validation of  $\beta$ -carotene hydroxylase AcBCH genes in *Actinidia chinensis*. *Hortic Res.* 4;9:uhac063.

Yao D, Wang Y, Li Q, Ouyang X, Li Y, Wang C, Ding L, Hou L, Luo M, Xiao Y (2018) Specific Upregulation of a Cotton Phytoene Synthase Gene Produces Golden Cottonseeds with Enhanced Provitamin A. *Sci Rep* 8(1):1348.

Yuan T, Liang J, Dai J, Zhou XR, Liao W, Guo M, Aslam M, Li S, Cao G, Cao S (2022) Genome-Wide Identification of *Eucalyptus* Heat Shock Transcription Factor Family and Their Transcriptional Analysis under Salt and Temperature Stresses. *Int J Mol Sci.* 23(14):8044.

Zhai S, Li G, Sun Y, Song J, Li J, Song G, Li Y, Ling H, He Z, Xia X (2016) Genetic analysis of phytoene synthase 1 (*Psy1*) gene function and regulation in

common wheat. BMC Plant Biol. 16(1):228.