

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

Análise Genômica e Transcriptômica de *Psidium cattleianum* Sabine L.
(Myrtaceae) e os mecanismos evolutivos envolvidos na coloração dos frutos

NICOLE MOREIRA VETO

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andreia Carina Turchetto-Zolet

Porto Alegre, dezembro de 2019

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

Análise Genômica e Transcriptômica de *Psidium cattleianum* Sabine L.
(Myrtaceae) e os mecanismos evolutivos envolvidos na coloração dos frutos

NICOLE MOREIRA VETO

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.^a Dr.^a Andreia Carina Turchetto-Zolet

Porto Alegre, dezembro de 2019

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).

*“Nada na vida é para ser temido, é apenas para ser compreendido.
Agora é hora de entendermos mais para que possamos temer menos “*

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Agradeço às instituições de fomento financeiro e formação de recursos humanos que possibilitaram a condução deste trabalho ao longo dos 4 anos do 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 professores do PPGBM que contribuíram ativamente para minha formação pessoal, acadêmica e profissional. Em especial, gratidão eterna pela orientação recebida da minha orientadora, Prof^ª Dra. Andreia Carina Turchetto-Zolet, que foi incansável, sempre com palavras motivantes e encorajadoras ao longo dos últimos seis anos da minha formação. Obrigada, porque ao mesmo tempo em que me cobrava e me instigava a crescer, incentivando o meu crescimento e da minha carreira, ainda assim me recebia com um olhar doce e compreensivo. E ainda, além de ser mulher, mãe, professora pesquisadora, conciliou de forma linda todos estes importantes papéis, nos enchendo de orgulho e exemplo. Me lembro de todas as vezes que entrei na sua sala chorando e saí confiante. Tenho orgulho de ter participado desta construção, como sua primeira aluna de mestrado e doutorado, além de uma relação de empatia, confiança e parceria que firmamos nestes anos. Não posso esquecer de validar todo apoio e torcida do Elmo, se esforçando ao máximo para nos garantir a tranquilidade necessária quanto às questões burocráticas, sempre carismático, sorridente, acolhedor e inspirador.

Aos amigos que estiveram por perto sempre, não só no doutorado, mas ao longo de uma vida e das minhas fases mais marcantes. À minha família pela compreensão nos momentos de ausência do convívio direto, sempre me apoiando incondicionalmente, acreditando que seria possível e me dando tranquilidade necessária para lidar com todas as transformações durante este período. À minha afilhada Betina, que nasceu com o início deste doutorado e à minha sobrinha

Manuela, que desde muito criança, já entendia que o que a tia fazia era muito importante e se orgulhava disso. À minha esposa Francine, por estar ao meu lado dia e noite nesta caminhada embasada no amor, respeito e compreensão, me ajudando direta e indiretamente, me trazendo persistência, determinação e coragem.

RESUMO

A evolução dos caracteres dos frutos nas angiospermas é um importante fator de diversificação. A cor das frutas atua como um sinal para os dispersores de sementes e muitas espécies de plantas diversificam seus frutos devido à seleção natural mutua, como reflexo da coevolução destes agentes, e com isso se adaptam e alcançam novos ambientes. Embora as novidades morfológicas nos frutos, como a cor, sejam conhecidas por desempenhar um papel essencial na dispersão das sementes, os mecanismos ambientais e genéticos que influenciam a evolução desse caráter na natureza ainda são pouco compreendidos. As regiões neotropicais são reconhecidas por possuírem uma grande biodiversidade, abrigando uma variedade de espécies com distintos tipos e cores de frutos. A família Myrtaceae, por exemplo, é uma das famílias mais ricas nos Neotrópicos e apresenta grande variação na cor dos frutos de suas espécies. *Psidium cattleianum* Sabine L. é uma espécie de Myrtaceae ecológica e economicamente importante que apresenta uma característica peculiar: a presença de populações de plantas com frutos amarelos e populações com frutos vermelhos. Esses dois grupos morfológicos não receberam status taxonômico e são relatados em alguns estudos como morfotipos. Hipotetizamos que a variação na cor dos frutos tenha evoluído como resultado da adaptação, promovendo diversificação nesta espécie. No presente estudo, o principal objetivo foi investigar as bases moleculares e evolutivas que proporcionaram a diferença na cor dos frutos de *P. cattleianum*, através do uso de abordagens de genômica e transcriptômica comparativa. Dados de RNA-Seq de folhas, frutos não maduros e maduros nos permitiram fornecer informações acerca da atividade transcricional durante o amadurecimento dos frutos nestes dois morfotipos. Os dados genômicos foram um importante avanço para a compreensão destas vias, além da obtenção do que aparentemente sejam os primeiros dados genômicos para esta espécie. Dados preliminares da montagem dos genomas indicam que são semelhantes, gerando perspectivas para investigação do perfil da maquinaria gênica envolvida em diferentes processos que podem ser correlacionados quanto à diferença na cor dos frutos desta espécie. Nossos dados e análises nos permitiram identificar potenciais genes envolvidos na biossíntese de pigmentos que foram regulados diferentemente durante o amadurecimento de

frutos em frutos vermelhos e amarelos, revelando questões promissoras para a compreensão das vias envolvidas na maturação e coloração de frutos de *P. cattleyanum* e serve como um recurso valioso para o entendimento das bases genéticas da evolução das cores dos frutos, direção da evolução da cor dos frutos na diversificação de linhagens / espécies em regiões de biodiversidade como os Neotrópicos.

ABSTRACT

The evolution of fruit characters in angiosperms is an important factor of diversification. Fruit color acts as a signal to seed dispersers and many plant species have diversified their fruits to adapt to seed dispersal and reach new environments. Although morphological novelties in fruits, such as color, are known to play an essential role in seed dispersal, the environmental and genetic mechanisms that influence the evolution of this character in nature are still poorly understood. The neotropical regions are recognized for their great biodiversity, sheltering a variety of species with different types and colors of fruits. The Myrtaceae family, for example, is one of the richest families in the Neotropics and has great variation in the color of the fruits of its species. *Psidium cattleianum* Sabine L. is an ecologically and economically important Myrtaceae species that has a peculiar feature: the presence of yellow fruit and red fruit populations. These two morphological groups did not receive taxonomic status and are reported in some studies as morphotypes. We hypothesized that the variation in fruit color evolved as a result of adaptation, promoting diversification in this species. In the present study, the main objective was to investigate the molecular and evolutionary bases that provided the difference in fruit color of *P. cattleianum*, through the use of comparative genomics and transcriptomics approaches. Transcriptomic data from leaves, green and ripe fruits allowed us to provide information about transcriptional activity during fruit ripening in these two morphotypes. Genomic data were a significant advance for the understanding of these pathways, besides obtaining what are apparently the first genomic data for this species. Preliminary data from genome assembly indicate that they are similar about the metrics, generating perspectives to investigate the profile of gene machinery involved in different processes that can be correlated as to the difference in fruit colour of this species. Our genome and transcriptome data allowed us to identify potential genes involved in differently regulated pigment biosynthesis during fruit ripening in red and yellow fruits. This study reveals promising data for understanding the pathways involved in fruit maturation and coloring of *P. cattleianum* and serves as a valuable resource for understanding the genetic basis of fruit colour evolution, direction of fruit colour evolution in diversification lineages / species in biodiversity regions such as the Neotropics.

SUMÁRIO

Capítulo I.....	11
<i>Introdução</i>	11
INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Diversificação e Evolução dos frutos	12
1.2 A família Myrtaceae e sua diversidade de frutos	15
OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
Capítulo II.....	23
ARTIGO CIENTÍFICO 1	23
Capítulo III	139
ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	139
Capítulo IV	160
CONSIDERAÇÕES FINAIS	161

Capítulo I

Introdução

INTRODUÇÃO

1.1 Diversificação e Evolução dos frutos

A diversificação fisiológica e morfológica em plantas ocorre durante a evolução como um resultado da adaptação às mudanças em seu habitat (Wang et al. 2015). Embora a base teórica dos processos evolutivos esteja associada a todos organismos, as plantas possuem uma grande capacidade de se adaptar a paisagens distintas que se sobrepõem a fronteiras de biomas, regiões biogeográficas e ecorregiões. Assim, as plantas são organismos amplamente utilizados em estudos sobre os mecanismos evolutivos de adaptação, pois respondem às diversas mudanças climáticas e ambientais, sejam essas por ações antrópicas ou não.

Ainda que sésseis, as plantas atuam de diferentes formas para enfrentar os desafios de transcender o tempo e espaço, seja através de novidades estruturais ou envolvidas em crescimento direcional (Raven et al. 1996; Esmon et al. 2005). Nas Angiospermas, além da marcante inovação das flores e a coevolução com animais, a origem dos frutos também é um exemplo de adaptação evolutiva que possibilitou a sobrevivência e distribuição da progênie das espécies (Raven et al. 1996; Wang et al. 2015). Estes fatores associados, foram fundamentais para diversificação deste grupo (Dilcher 2000; Lunau 2004). Além disso, também devem ser consideradas radiações evolutivas em cada um desses fatores (Wang et al. 2015).

O surgimento de novidades morfológicas ou estruturas específicas associadas aos frutos é muitas vezes determinada pela coevolução com seus dispersores (Ridley 1930; Snow 1971) que, atraídos por suas preferências ou necessidades, desempenham um papel essencial na dispersão das sementes. A mudança no tamanho dos frutos associados à radiação de aves e roedores foi observada por Tiffney, (1984), corroborando com a literatura da época, quanto à hipótese de que o modo de dispersão das plantas pode interferir na morfologia dos seus frutos e sementes, da mesma forma que se apresentam seus dispersores (Ridley 1930). Em 1995, Jordano conduziu um estudo em que sugere que o tamanho dos frutos das angiospermas seria associado ao tipo de dispersor, mas indica que outras associações ainda precisam ser muito mais exploradas dentro de cada família tendo como foco o entendimento do mutualismo planta – semente – dispersor. Nesse sentido a diversidade de cores e sabores dos frutos maduros, são características

marcantes que atraem animais que se alimentam destes frutos e auxiliam na dispersão das sementes e que também precisam ser exploradas. Por isso, as variações na cor e no sabor dos frutos são características que tem crescente diversificação. Muito tem se explorado acerca da mudança na coloração dos frutos de diversas espécies (Cecchi and Rodriguez-Amaya 1981; Sun et al. 2007; Bovy et al. 2007; Lightbourn et al. 2008; Kimura and Sinha 2008; Lopes et al. 2012; Schweiggert et al. 2016), normalmente conduzidas a partir de espécies modelo ou com interesse econômico como caju, pimentão, tomate, etc . Entretanto, estes complexos mecanismos de desenvolvimento, coloração e amadurecimento dos frutos ainda são pouco explorados em estudos que utilizam espécies não modelo ou em populações naturais (Teyssier et al. 2015), entendimento necessário para total compreensão destes processos.

Investigar como esses processos evoluem através do tempo e do espaço é um tema central da biologia evolutiva. Inclusive, era uma preocupação evidenciada por Darwin em 1879, em uma de suas frases épicas escrita em carta trocadas com Joseph Hooker, ele cita: *“The rapid development as far as we can judge of all the higher plants within recent geological times is an abominable mystery.”* (Darwin et al. 1903). Atualmente, o “mistério abominável” de Darwin ainda é objeto de investigação e pesquisa, enriquecendo discussões à luz da evolução através do tempo e da utilização da tecnologia disponível (Herendeen et al. 2017; Simonin and Roddy 2018).

Os frutos são estruturas provenientes do amadurecimento do ovário e estruturas associadas a ele. O óvulo se desenvolve em sementes que, quando maduras, serão expostas pelo fruto, garantindo o ciclo reprodutivo da planta (Raven et al. 1996). Assim, são caracterizados três tipos básicos de frutos: 1) simples 2) agregados 3) múltiplos. Os frutos simples são os que apresentam maior diversidade e podem ser divididos entre frutos carnosos (drupas, bagas e pomos) e secos (cápsulas, nozes, vagens, etc)

Assim como a forma e o tamanho, a cor do fruto em plantas exerce um papel essencial sendo um dos traços mais marcantes envolvidos na detecção por seus dispersores de sementes (Knight and Siegfried 1983). As cores dos frutos carnosos geralmente são brilhantes e variadas, ao contrário das cores menos atrativas de frutos secos (Kerner von Marilaun 1895; Ridley 1930). Os dispersores apresentam diferentes

sistemas visuais, podendo perceber de forma distinta as cores dos frutos. Cores vermelhas e pretas são frequentemente relacionadas com a síndrome de dispersão por aves, com base no pressuposto de que a sua abundância é uma consequência de uma preferência global por aves para essas cores (Schaefer et al. 2007). Embora o significado adaptativo da cor dos frutos que são dispersos por vertebrados tem sido estudado há mais de 150 anos (Darwin 1859) e mesmo que alguns trabalhos abordem questões de coevolução (Eriksson 2016) entre relações entre plantas e dispersores (Knight and Siegfried 1983; Herrera 2013), ainda há muito a ser entendido sobre os processos ecológicos e evolutivos responsáveis pela diversidade da cor dos frutos. Dessa forma, espécies que aprestam variação na cor de seus frutos ao longo da sua distribuição geográfica podem fornecer informações valiosas para entender os mecanismos evolutivos e ecológicos dessa variação, além de entender os mecanismos através dos quais os animais têm influenciado na evolução desse traço.

A maior diversificação de cores de frutos é observada no hemisfério Sul, principalmente nas regiões tropicais e neotropicais (Sinnott-Armstrong et al. 2018). A região Neotropical, por exemplo, que se entende do México até o limite Sul da América do Sul, abriga uma grande diversidade de plantas, as quais apresentam variação na cor de seus frutos ao longo da distribuição. Essa região está inserida em uma complexa zona geográfica e climática, conectando a América Central e América do Sul através da Zona de Convergência Intertropical. Por sua vez, a América do Sul também apresenta uma variedade de climas: tropical, subtropical e temperado, representados nas porções equatorial, sul e extremo sudoeste, respectivamente (Fittkau 1969; Wachowiak et al. 2009; Aragón et al. 2011). Caracterizada por complexos perfis geomorfológicos, contém particularidades biogeográficas, sendo composta por diferentes biomas e ecorregiões, o que torna o continente com maior biodiversidade da Terra (Morrone 2004; Morrone 2006; Aragón et al. 2011). A região tropical da América do Sul abriga uma vasta diversidade de plantas com diferentes cores de frutos. Dentre essas espécies destacam-se as espécies da família Myrtaceae, que apresentam frutos com cores que variam do amarelo, laranja, vermelho, azul e preto. Sendo justamente a variação das características dos frutos e seus dispersores os fatores chave para explorar efeitos da síndrome de dispersão, a representatividade da família Myrtaceae apresenta-se como um ótimo modelo para este entendimento (Pizo 2002).

1.2 A família Myrtaceae e sua diversidade de frutos

A família Myrtaceae é uma das famílias de maior representatividade de espécies em regiões Neotropicais. Nestes ambientes, as espécies mostram uma ampla gama de sistemas de polinização e dispersão de sementes (Gressler et al. 2006) e uma variação significativa na morfologia dos frutos (Landrum and Kawasaki 1997) que permitem que a especiação seja examinada a partir da perspectiva de síndromes de frutificação (Pizo 2002) e outras respostas à pressão do nicho da macrofauna. Para além da importância ecológica da disponibilidade dos frutos para seus dispersores naturais, os frutos selvagens das espécies dessa família também são utilizados para o consumo humano, pois são ricos em vitaminas, compostos fenólicos e antioxidantes, além de também serem utilizados na medicina popular por suas propriedades medicinais (Pereira et al. 2012; Hanbali et al. 2013) Schmidt et al 2018) e de apresentarem grande potencial de exploração econômica (Bezerra, 2016, Schmidt et al 2018).

O gênero *Psidium* L. é um dos gêneros pertencentes à família Myrtaceae que apresenta aproximadamente 100 espécies (Landrum and Kawasaki 1997; Govaerts et al. 2008; Tuler et al. 2019) e encontra-se distribuído desde o sul México, Caribe e Brasil até o Uruguai e norte da Argentina, estendendo-se até as Ilhas Galápagos (Landrum 2003). No Brasil há registros em diferentes Biomas, tais como: Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica e Floresta Amazônica (Castro et al. 1999; Landrum 2003; Costa 2009), sendo um dos gêneros que apresenta maior abrangência geográfica e ecológica. De acordo com Costa (2009) a interação entre genótipos com diferentes ambientes assume um papel fundamental na expressão fenotípica das espécies desse gênero, causando grande plasticidade fenotípica, dificultando a identificação e delimitação de suas espécies.

A espécie *Psidium cattleianum* Sabine L., popularmente conhecida no Brasil como araçá ou araçazeiro, apresenta populações com diferentes cores de frutos, o que a torna interessante para estudos sobre a coloração e pigmentação de frutos. *Psidium cattleianum* é caracterizada pelo hábito arbustivo ou arbóreo e é nativa na Mata Atlântica, ocorrendo desde a Bahia até o nordeste do Uruguai (Figura 1) (Wikler 1999; Castro et al. 2004; Medina 2014). Facilmente se adapta a uma variedade de

climas e tem sido cultivada em muitos países com climas tropicais, como Havaí e muitas ilhas do Caribe (Biegelmeier et al. 2011; Patel 2012), apresentando-se até como invasoras em algumas regiões.

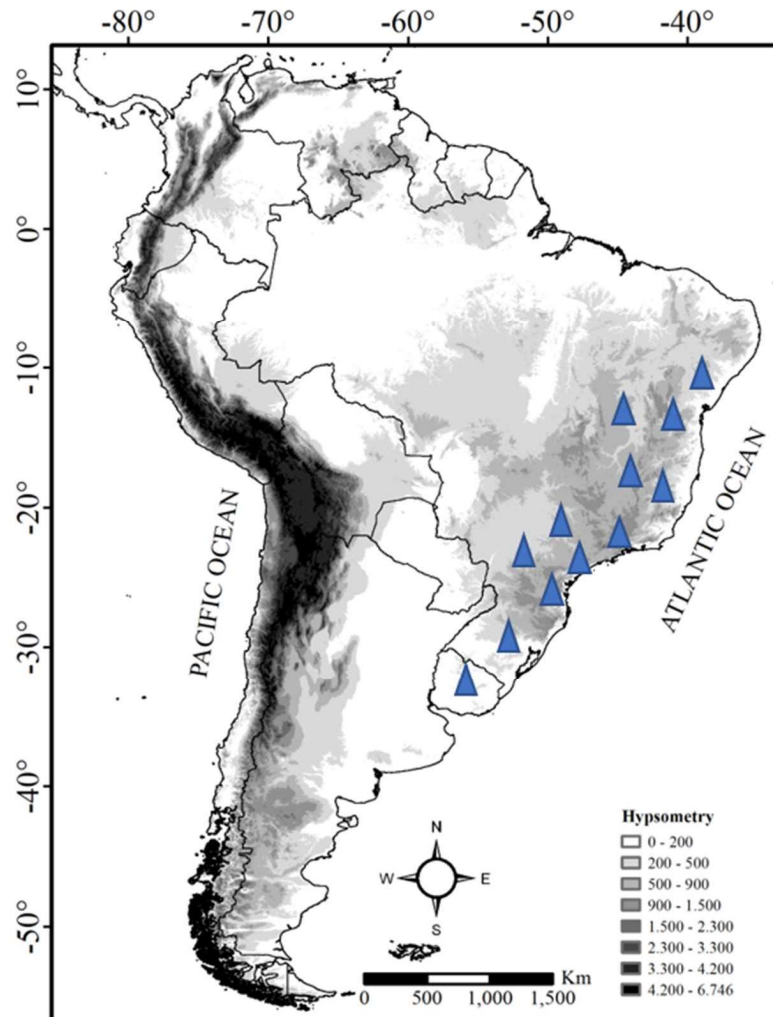


Figura 1 - Mapa mostrando distribuição atual de *Psidium cattleianum* Sabine L.

Sabe-se que a poliploidia é um importante fator evolutivo em Myrtaceae (Atchison 1947). O número cromossômico para o gênero é de $2n=22$ (Robinson and Decker-Walters 2011; Nakasone and Paull, 1998), mas em *P. cattleianum* os citótipos poliploides variam de $2n=44$ a $2n=88$ (da Costa Itayguara and Forni-Martins 2006; Costa 2009; Medina 2014). Já Machado (2016) descreve 9 citótipos que variam entre $2n=3x=33$ e $2n=12x=132$.

Esta espécie apresenta grande importância ecológica, pois exerce papel fundamental na alimentação de diversos animais, como aves, morcegos e macacos, os quais também agem como dispersores de sementes dessa espécie. Também exerce um significativo papel econômico, pois possui propriedades biológicas potencialmente importantes, como a presença de grande quantidade de vitamina C (326mg/ 100g da parte comestível dos frutos), valor maior até mesmo do que a laranja e o limão (Andersen and Andersen 1988). Os frutos também contêm menos carboidratos e calorias e maior teor de lipídios que a maçã, um cultivar amplamente consumido no América do Sul e no Mundo (Pereira et al. 2018). São fonte de carotenoides e antocianinas, que além de propriedades antioxidantes também atuam na pigmentação de frutos, sendo influenciados pelos estágios de maturação (Machado 2009). Além disso, a planta é amplamente usada na medicina popular para o tratamento de várias doenças (Menezes et al. 2010; Im et al. 2012; Alvarenga et al. 2013)

Os frutos de *P. cattleyanum* são bagas globosas e apresentam diversidade em sua coloração (Figura 2). Caracterizam-se por serem frutos piriformes, ovóides ou achatados, coroados pelo cálice, de consistência semelhante ao epicarpo. O epicarpo é amarelo ou vermelho e o endocarpo apresenta coloração amarelo-clara a branca ou vermelha, clareando em direção ao centro (Sanchothene 1989). Como já mencionado, essa diversidade de coloração dos frutos de *P. cattleyanum* pode ser encontrada em diferentes populações, com alguns indivíduos que possuem os frutos de cor amarela e outros com frutos de cor vermelha. Entretanto, não existe nenhum estudo que aborde essa variação fenotípica na coloração dos frutos de araçá com enfoque taxonômico ou de influência ambiental e adaptativa. Dessa forma, estudos evolutivos nessa espécie podem ser de extrema relevância tanto para a caracterização da diversidade genética e fenotípica em populações naturais, como para o entendimento sobre a evolução da coloração de frutos em plantas.

Na literatura atual, praticamente não são encontrados trabalhos que tratam da questão da coloração dos frutos no gênero *Psidium* (Santos et al. 2014). Com isso, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares e sua regulação em rotas de síntese da coloração dos frutos de *P. cattleyanum*, inclusive que mecanismos adaptativos podem estar envolvidos nesta diversidade de coloração. Desta forma, *P. cattleyanum* é um excelente modelo para entender quais são os mecanismos evolutivos envolvidos

na coloração dos frutos e qual a relação desses diferentes fenótipos com aspectos taxonômicos e evolutivos da espécie.



Figura 2. Frutos de *Psidium cattleianum* Sabine L. mostrando a diversidade na coloração. **(A)** Araçá amarelo **(B)** Araçá vermelho.

Fonte: Arquivo pessoal

1.3 Mecanismos moleculares que determinam a cor dos frutos: síntese de antocianinas

A cor dos frutos é determinada por diferentes proporções de pigmentos dos tecidos, tais como os carotenóides, clorofila, antocianinas e flavonóides (Liu et al. 2003; Nashilevitz et al. 2010; Kachanovsky et al. 2012). As antocianinas, metabólitos especializados da rota dos fenilpropanóides e amplamente presentes nas espécies vegetais, são um dos principais compostos responsáveis pela coloração dos frutos. As antocianinas são compostos polifenólicos glicosilados com uma gama de cores que variam de laranja, vermelho e de roxo a azul em flores, sementes, frutas e tecidos vegetativos (Tanaka and Ohmiya 2008). Como as antocianinas são pigmentos solúveis em água, localizados principalmente nos vacúolos celulares, sua tonalidade, uma propriedade de cor, é influenciada pelo ambiente intravacuolar. Dessa forma, mais de 600 antocianinas já foram identificadas na natureza (Smeriglio et al. 2016). Nas plantas, as antocianinas mais comuns são as derivadas de seis antocianidinas comuns: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (Kong et al. 2003). Além de desempenharem um papel significativo na pigmentação dos frutos, as antocianinas também possuem funções antioxidantes (Kelebek and Selli 2011; Hanbali et al. 2013) e antitumorais (Knekt et al. 1997; Kang et al. 2003) e protegem as plantas contra vários estresses bióticos e abióticos (Chalker-Scott 1999;

Ahmed et al. 2014). O acúmulo e a alocação de antocianinas nos tecidos são regidos por complexas vias metabólicas que são reguladas por condições genéticas e ambientais; além de fortemente correlacionadas com a expressão de genes estruturais e reguladores (Jaakola 2013).

A rota biossintética das antocianinas é comum à rota dos flavonoides, que é bem compreendida e conservada nas plantas com sementes. Foi proposto que as enzimas biossintética formam um complexo molecular (metaboloma) via interação proteína-proteína e estão ancoradas na membrana do retículo endoplasmático (ER) (Winkel 2004; Grotewold 2006). As enzimas que participam da rota biossintética dos flavonóides pertencem a várias famílias de enzimas, como dioxigenases dependentes de 2-oxoglutarato (OGD), citocromos P450 (P450) e glicosiltransferases (GT), o que sugere que as plantas recrutaram essas enzimas a partir de vias metabólicas pré-existentes (Tanaka et al. 2008) (Figura 3).

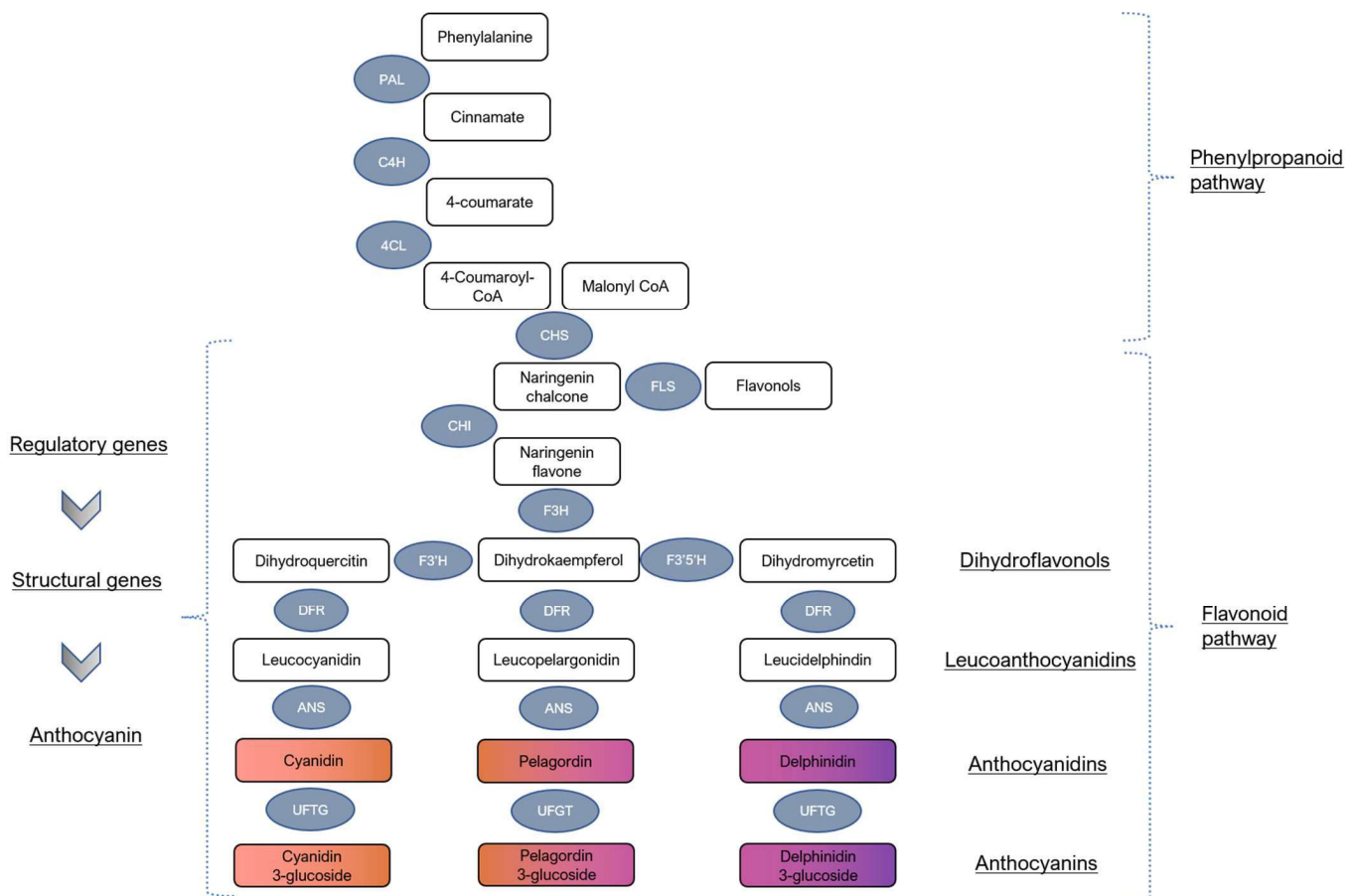


Figura 3 - Via da biossíntese de Antocianinas. Fenilalanina amônia-liase (**PAL**), cinamato-4-hidroxilase (**C4H**), 4-coumaroyl CoA: ligase (**4CL**), chalcona sintase (**CHS**), flavonol sintase (**FLS**), chalcone isomerase (**CHI**), flavanona 3-hidroxilase (**F3H**), flavonóide 3'-hidroxilase (**F3'H**), flavonóide 3', 5'-hidroxilase (**F3'5'H**), dihidroflavonol 4-redutase (**DFR**), antocianidina sintase (**ANS**), flavonóide 3-O-glucosiltransferase (**UFGT**) e flavonol sintase(**FLS**).

Fonte: A autora (2019)

A regulação da transcrição de genes estruturais desempenha um papel importante na via biossintética das antocianinas (Wei et al. 2015). Sabe-se que os genes da rota de flavonóides são induzidos coordenadamente e fatores de transcrição que regulam diretamente a expressão dos genes estruturais da rota foram identificados em várias espécies. A regulação da rota ocorre pela interação dos fatores de transcrição MYB R2R3 de ligação ao DNA e das proteínas hélice-loop-hélice básica do tipo MYC (bHLH) e proteínas de repetição WD40 (Matus et al. 2008; Allan et al. 2008; Jaakola 2013). Portanto, as diferenças na coloração dos frutos entre espécies, podem ocorrer tanto pelas modificações nos genes estruturais, como pelas modificações nos genes regulatórios proporcionando diferença na expressão dos genes estruturais.

1.4 Análises genômica e transcriptômica

Dados genômicos baseados no sequenciamento de genomas e transcriptomas tem possibilitado a descoberta de genes associados a características fenotípicas e ecológicas que podem estar envolvidas com adaptação e especiação. Também permitem a identificação de marcadores moleculares em larga escala, como os SNPs (*Single Nucleotide Polimorphisms*), em populações naturais. O estudo de transcriptomas possibilita também análises de transcritos específicos e a estimativa da expressão gênica em diferentes tecidos (Wei et al. 2015), além de que, mudanças em perfis de expressão gênica podem ser exploradas a fim de identificar associação à especiação (Hegarty et al. 2008). Abordagens que utilizam transcriptômica comparativa e/ou análise de redes de coexpressão são capazes de identificar potenciais genes envolvidos na regulação gênica, que podem estar relacionados com caracteres morfológicos ou adaptativas (Ichihashi et al. 2014). Estudos genômicos tem

sido decisivos em resoluções de grupos taxonômicos, contribuindo para o entendimento de relações fisiológicas à estruturas e funções gênicas (Hummer and Janick 2009). Juntos, esses dados estão fornecendo novas perspectivas nos estudos de variação genética adaptativa e seleção natural. Neste contexto, a utilização de NGS (*Next Generation Sequence*) é uma escolha econômica para caracterizar organismos não-modelo, sem um genoma de referência (Wang et al. 2009; Surget-Groba and Montoya-Burgos 2010).

A análise de transcriptomas tem permitido o estudo e identificação de genes estruturais e regulatórios da biossíntese de antocianinas em diversas espécies, tais como maçã (Ma et al. 2019), pêssigo (Cao et al. 2018), jaboticaba (Zhang et al. 2018), batata (Liu et al. 2015; Zhao et al. 2018). Em 2015, Liu e colaboradores compararam principalmente cultivares de batatas brancas com cultivares de batatas roxas e encontraram SNPs em importantes fatores de transcrição como MYB e bHLH1 e no gene antocianidina 3-O-glucosiltransferase (UFGT), que teve um perfil de expressão diferente entre as comparações das cultivares. Em 2018, Zhao e colaboradores especularam sobre o envolvimento de 23 genes expressos diferencialmente e 24 fatores de transcrição que estariam envolvidos na biossíntese de antocianinas em comparações entre mutantes de batata doce, dentre eles fenilalanina amônia-liase (PAL), cinnamato 4-hidroxilase (C4H), 4-cumarato-CoA ligase (4CL), chalcone isomerase (CHI), flavanona 3-hidroxilase (F3H), leucoantocianidina dioxigenase / antocianidina sintase (LDOX/ANS) e UFTG. Já Zhang e colaboradores (2018) conduziram um trabalho utilizando frutos de jaboticabas cultivadas que apresentavam diferentes estágios de maturação, com coloração verde e preta. Neste estudo, os autores reforçam a hipótese de o fator de transcrição MYB regular positivamente a biossíntese de antocianinas.

Apesar das diferentes abordagens e esforços para compreender a coloração dos frutos das angiospermas, esses estudos concentraram-se em cultivares já domesticadas e exploradas comercialmente. Nenhum estudo esclareceu completamente como esses processos ocorrem em frutos provenientes de populações naturais, e as condições e fatores envolvidos na maquinaria evolutiva desses aspectos. A compreensão dos princípios que regem essas forças pode ajudar a explicar questões antigas e complexas acerca da variação da cor dos frutos, além

do significado evolutivo em sua interação com seus dispersores, promovendo a diversificação de linhagens e coevolução.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar as bases moleculares e evolutivas da coloração dos frutos de plantas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine L., Myrtaceae) com frutos vermelhos e frutos amarelos através de análises de genômica e transcriptômica comparativa.

2.2 Objetivos específicos

- a) Sequenciar, montar e caracterizar o transcriptoma de indivíduos de *P. cattleianum* com frutos vermelhos e com frutos amarelos;
- b) Verificar o perfil transcricional, através da análise de expressão diferencial, durante o amadurecimento dos frutos dos dois morfotipos de *P. cattleianum*;
- c) Identificar genes diferencialmente expressos que possam estar envolvidos com o acúmulo de pigmento nos dois morfotipos;
- d) Sequenciar, montar e caracterizar o genoma de indivíduos de *P. cattleianum* com frutos vermelhos e com frutos amarelos;
- e) Identificar e caracterizar os genes envolvidos nas rotas de coloração dos frutos através análise comparativa do genoma e do transcriptoma de indivíduos com frutos vermelhos e com frutos amarelos;

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de metodologias que envolvam dados de transcriptomas e genomas tem se mostrado eficaz para aplicação em estudos de investigação de questões evolutivas, desde as mais antigas até mais atuais.

Com a inovação e, conseqüentemente, novas descobertas, também surgem os desafios de trabalhar com grandes conjuntos de dados, ao mesmo tempo que fornecem ampla possibilidade de acessar as informações “armazenadas” ao longo do tempo.

Considerando as novidades evolutivas que envolvem caracteres morfo e/ou fisiológicos das plantas, compreender as questões que cercam a coloração dos frutos e sua relação com a escolha e dispersão por seus dispersores em populações naturais de espécies não modelo, ainda é um campo que traz mais perguntas do que respostas.

Este trabalho utilizou, o que parecem ser, os primeiros dados de transcriptomas e genomas para espécie *Psidium cattleianum*. Seja por questões taxonômicas ou puramente evolutivas, esta espécie apresenta uma característica intrigante e que ainda precisa ser muito explorado: plantas que possuem frutos vermelhos e plantas que possuem frutos amarelos, denominados morfotipos, e que podem ser encontrados juntos ou separados ao longo da sua distribuição.

O primeiro capítulo que compõem esta tese adotou análises comparativas dos transcriptomas de folhas e frutos de cor amarela e vermelha em diferentes

estágios de maturação. O objetivo era identificar os genes envolvidos nas rotas de antocianinas, que se sabe estar envolvida com a coloração de frutos. A análise de expressão diferencial identificou um perfil de expressão diferente em genes importantes que já haviam sido descritos em outras espécies por estarem envolvidos na biossíntese de antocianinas, como antocianidina sintase (ANS) e UDP-glicose: flavonóide-o-glucosiltransferase (UFGT), considerando os estágios de maturação de cada morfotipo.

O segundo capítulo desta tese, ainda em preparação e construção abordou estratégias de genômica comparativa, a fim de colaborar para elucidar estas questões baseadas em dados genômicos. Foram sequenciados e montados genomas dos dois morfotipos de *P. cattleyanum*. Os resultados da montagem dos genomas demonstram métricas semelhantes quanto ao número de contigs, scaffolds e conteúdo GC. Os resultados da anotação também foram semelhantes em relação ao número de genes anotados, agora iremos avaliar e comparar quais são estes genes em que processos estão envolvidos associando os dados dos genomas e de RNA-Seq. Estes dados serão relevantes para buscar respostas em relação aos mecanismos evolutivos que causam diferenciação na coloração dos frutos dos dois morfotipos e a preferência por seus dispersores. Além das análises comparativas em relação aos dados de montagem, anotação e anotação funcional, também surgem perspectivas, como por exemplo: 1) aprofundar as análises dos genes envolvidos na via de biossíntese de antocianinas com base nos dados do RNA-Seq e genes diferencialmente expressos 2) identificar genes de regulação e regiões promotoras dos genes estruturais para compreender a regulação gênica desta via nesta espécie 3) conduzir uma filogenia considerando genes e/ou regiões

que estejam relacionados com especiação para discutir questões taxonômicas nesta espécie 4) análise de marcadores moleculares como SNPs (single nucleotide polymorphism) e SSR (simple sequence repeats) entre os dois morfotipos.

Ao longo do desenvolvimento deste estudo, verificamos também que há uma lacuna em relação aos dados ecológicos mais abrangentes sobre os nichos e habitats dessa espécie, que pudessem contribuir para a discussão da dinâmica da associação dos dispersores em relação à cor dos frutos. Dados filogeográficos ou de nicho que sugerem distribuição no passado são inexistentes até o presente momento.

Nas próximas etapas estão previstas a análise de genes diferencialmente expressos utilizando o RNA-Seq com base nos genomas de referência e validação dos genes diferencialmente expressos nos diferentes tecidos e estágios de maturação. Além disso, este trabalho fornece numerosas possibilidades diante dos dados genômicos que serão amplamente explorados tanto com enfoque funcional, quanto evolutivo.

REFERENCES

Ahmed NU, Park JI, Jung HJ, Yang TJ, Hur Y and Nou IS (2014) Characterization of dihydroflavonol 4-reductase (DFR) genes and their association with cold and freezing stress in *Brassica rapa*. *Gene* 550:46–55.

Allan AC, Hellens RP and Laing WA (2008) MYB transcription factors that colour our fruit. *Trends in Plant Science* 13:99–102.

Alvarenga FQ, Mota BCF, Leite MN, Fonseca JMS, Oliveira DA, De Andrade Royo V, E Silva MLA, Esperandim V, Borges A and Laurentiz RS (2013) In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. *Journal of Ethnopharmacology* 150:280–284.

Andersen O and Andersen VU (1988) *As frutas silvestres brasileiras*. Editora Globo

Aragón E, Goin FJ, Aguilera YE, Woodburne MO, Carlini A a. and Roggiero MF (2011) Palaeogeography and palaeoenvironments of northern Patagonia from the Late Cretaceous to the Miocene: The Palaeogene Andean gap and the rise of the North Patagonian High Plateau. *Biological Journal of the Linnean Society* 103:305–315.

Biegelmeyer R, Andrade JMM, Aboy AL, Apel MA, Dresch RR, Marin R, Raseira M do CB and Henriques AT (2011) Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. *Journal of Food Science* 76:C991–C996.

Bovy A, Schijlen E and Hall RD (2007) Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): The potential for metabolomics. *Metabolomics* 3:399–412.

Cao K, Ding T, Mao D, Zhu G, Fang W, Chen C, Wang X and Wang L (2018) Transcriptome analysis reveals novel genes involved in anthocyanin biosynthesis in the flesh of peach. *Plant Physiology and Biochemistry* 123:94–102.

Castro AAJF, Martins FR, Tamashiro JY and Shepherd GJ (1999) How Rich is the Flora of Brazilian Cerrados? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86:192.

Castro CM, Raseira M do CB and Franzon RC (2004) *Espécies Frutíferas Nativas*

do Sul do Brasil, 1ª. Embrapa Clima Temperado, Pelotas

Cecchi HM and Rodriguez-Amaya DB (1981) Carotenoid Composition and Vitamin A Value of Fresh and Pasteurized Cashew-Apple (*Anacardium occidentale* L.) Juice. *Journal of Food Science* 46:147–149.

Chalker-Scott L (1999) Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* 70:1–9.

Costa IR (2009) Estudos evolutivos em Myrtaceae : aspectos citotaxonomicos e filogeneticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e generos relacionados. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

da Costa Itayguara R and Forni-Martins ER (2006) Chromosome studies in brazilian species of *campomanesia ruiz* and *pávon* and *psidium* l. (*myrtaceae* juss.). *Caryologia*. doi: 10.1080/00087114.2006.10797891

Darwin C, Darwin F and Seward AC (1903) More letters of Charles Darwin : a record of his work in a series of hitherto unpublished letters /. More letters of Charles Darwin : a record of his work in a series of hitherto unpublished letters /. doi: 10.5962/bhl.title.160210

Dilcher D (2000) Toward a new synthesis: Major evolutionary trends in the angiosperm fossil record. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:7030–7036.

Eriksson O (2016) Evolution of angiosperm seed disperser mutualisms : the timing of origins and their consequences for coevolutionary interactions between angiosperms and frugivores. 91:168–186.

Esmon CA, Pedmale U V. and Liscum E (2005) Plant tropisms: Providing the power of movement to a sessile organism. *International Journal of Developmental Biology* 49:665–674.

Fittkau EJ (1969) *Biogeography and Ecology in South-America*, Volume 2.

Govaerts R, Sobral M, Ashton P, Barrie F, Holst BK, Landrum LL and Soares-Silva LH (2008) *World checklist of myrtaceae*. Royal Botanic Gardens

Gressler E, Pizo MA and Morellato PC (2006) *Polinização e dispersão de sementes*

em Myrtaceae do Brasil. *Brazilian Journal of Botany* 29:509–530.

Grotewold E (2006) THE GENETICS AND BIOCHEMISTRY OF FLORAL PIGMENTS. *Annual Review of Plant Biology* 57:761–780.

Hanbali LB, Ghadieh RM, Hasan HA, Nakhal YK and Haddad JJ (2013) Measurement of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds under Versatile Extraction Conditions: I. The Immuno-Biochemical Antioxidant Properties of Sweet Cherry (*Prunus avium*) Extracts. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry* 12:173–187.

Hegarty MJ, Barker GL, Brennan AC, Edwards KJ, Abbott RJ and Hiscock SJ (2008) Changes to gene expression associated with hybrid speciation in plants: Further insights from transcriptomic studies in *Senecio*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363:3055–3069.

Herendeen PS, Friis EM, Pedersen KR and Crane PR (2017) Palaeobotanical redux: Revisiting the age of the angiosperms. *Nature Plants*. doi: 10.1038/nplants.2017.15

Herrera CM (2013) Determinants of plant-animal coevolution: the case of mutualistic dispersal of seeds by vertebrate. *Nordic Society Oikos* 44:132–141.

Hummer KE and Janick J (2009) Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. *Genetics and Genomics of Rosaceae*. Springer New York, pp 1–17

Ichihashi Y, Aguilar-Martínez JA, Farhi M, Chitwood DH, Kumar R, Millon L V., Peng J, Maloof JN and Sinha NR (2014) Evolutionary developmental transcriptomics reveals a gene network module regulating interspecific diversity in plant leaf shape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.1402835111

Im I, Park KR, Kim SM, Kim C, Park JH, Nam D, Jang HJ, Shim BS, Ahn KS, Mosaddik A et al. (2012) The butanol fraction of guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf extract suppresses MMP-2 and MMP-9 expression and activity through the suppression of the ERK1/2 MAPK signaling pathway. *Nutrition and cancer*. doi: 10.1080/01635581.2012.642455

Jaakola L (2013) New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in

fruits. *Trends in Plant Science* 18:477–483.

Jordano P (1995) Angiosperm fleshy fruits and seed dispersers: A comparative analysis of adaptation and constraints in plant-animal interactions. *American Naturalist* 145:163–191.

Kachanovsky DE, Filler S, Isaacson T and Hirschberg J (2012) Epistasis in tomato color mutations involves regulation of phytoene synthase 1 expression by cis-carotenoids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.1214808109

Kang SY, Seeram NP, Nair MG and Bourquin LD (2003) Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*. doi: 10.1016/S0304-3940(02)00583-9

Kelebek H and Selli S (2011) Evaluation of chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02777.x

Kerner von Marilaun A (1895) *The natural history of plants: their forms, growth, reproduction, and distribution: From the German of Anton Kerner Von Marilaun*. 4:

Kimura S and Sinha N (2008) Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. *Cold Spring Harbor Protocols*. doi: 10.1101/pdb.emo105

Knekt P, Järvinen R, Seppänen R, Heliövaara M, Teppo L, Pukkala E and Aromaa A (1997) Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology*. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009257

Knight RS and Siegfried WR (1983) Inter-Relationships Between Type, Size and Colour of Fruits and Dispersal in Southern African Trees. *Oecologia* 405–412.

Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF and Brouillard R (2003) Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923–933.

Kumar S, Stecher G and Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33:1870–1874.

- Landrum LR (2003) A revision of the *Psidium salutare* complex (Myrtaceae). *SIDA, Contributions to Botany* 21:1449–1469.
- Landrum LR and Kawasaki ML (1997) The Genera of Myrtaceae in Brazil: An Illustrated Synoptic Treatment and Identification Keys. *Brittonia* 49:508–536.
- Lawton-Rauh A (2003) Evolutionary dynamics of duplicated genes in plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29:396–409.
- Lightbourn GJ, Griesbach RJ, Novotny JA, Clevidence BA, Rao DD and Stommel JR (2008) Effects of Anthocyanin and Carotenoid Combinations on Foliage and Immature Fruit Color of *Capsicum annuum* L. *Journal of Heredity* 105–111.
- Liu Y-S, Gur A, Ronen G, Causse M, Damidaux R, Buret M, Hirschberg J and Zamir D (2003) There is more to tomato fruit colour than candidate carotenoid genes. *Plant Biotechnology Journal*. doi: 10.1046/j.1467-7652.2003.00018.x
- Liu Y, Lin-Wang K, Deng C, Warran B, Wang L, Yu B, Yang H, Wang J, Espley R V., Zhang J et al. (2015) Comparative transcriptome analysis of white and purple potato to identify genes involved in anthocyanin biosynthesis. *PLoS ONE* 10:e0129148.
- Lopes MM de A, Miranda MRA de, Moura CFH and Enéas Filho J (2012) Bioactive compounds and total antioxidant capacity of cashew apples (*Anacardium occidentale* L.) during the ripening of early dwarf cashew clones. *Ciência e Agrotecnologia* 36:325–332.
- Lunau K (2004) Adaptive radiation and coevolution - Pollination biology case studies. *Organisms Diversity and Evolution* 4:207–224.
- Ma C, Liang B, Chang B, Yan J, Liu L, Wang Y, Yang Y and Zhao Z (2019) Transcriptome profiling of anthocyanin biosynthesis in the peel of “Granny Smith” apples (*Malus domestica*) after bag removal. *BMC Genomics*. doi: 10.1186/s12864-019-5730-1
- Machado AF de F (2009) IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CAROTENOIDES E ANTOCIANINAS DE FRUTAS.
- MACHADO RM (2016) DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ANÁLISE CARIOTÍPICA

DE CITÓTIPOS DE *Psidium cattleianum* SABINE (MYRTACEAE).

Matus J, Aquea F and Arce-Johnson P (2008) Analysis of the grape MYB R2R3 subfamily reveals expanded wine quality-related clades and conserved gene structure organization across *Vitis* and *Arabidopsis* genomes. *BMC Plant Biology* 8:83.

Medina SNV (2014) *Psidium cattleianum* Sabine y *Acca sellowiana* (Berg.) Burret (Myrtaceae): caracterización cromosómica y cariotípica em poblaciones.

Menezes TEC De, Delbem ACB, Brighenti FL, Okamoto AC and Gaetti-Jardim E (2010) Protective efficacy of *Psidium cattleianum* and *Myracrodruon urundeuva* aqueous extracts against caries development in rats. *Pharmaceutical Biology* 48:300–305.

Morrone JJ (2004) Panbiogeografía, componentes bióticos y zonas de transición. *Revista Brasileira de Entomologia* 48:149.

Morrone JJ (2006) Biogeographic Areas and Transition Zones of Latin America and the Caribbean Islands Based on Panbiogeographic and Cladistic Analyses of the Entomofauna. *Annual Review of Entomology* 51:467–494.

Nashilevitz S, Melamed-Bessudo C, Izkovich Y, Rogachev I, Osorio S, Itkin M, Adato A, Pankratov I, Hirschberg J, Fernie AR et al. (2010) An orange ripening mutant links plastid NAD(P)H dehydrogenase complex activity to central and specialized metabolism during tomato fruit maturation. *Plant Cell*. doi: 10.1105/tpc.110.074716

Patel S (2012) Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 11:243–248.

Pereira E dos S, Vinholes J, C. Franzon R, Dalmazo G, Vizzotto M and Nora L (2018) *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.024

Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, Hertz PF, De O. Rios A, Vizzotto M and Flôres SH (2012) Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:3061–3067.

- Pizo MA (2002) The seed dispersers and fruit syndromes of Myrtaceae in the Brazilian Atlantic forest. In: Douglas John Levey, Wesley R. Silva MG (ed) Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution, and Conservation. CABI Pub, pp 129–143
- Raven PH, Evert RF and Eichhorn SE (1996) *Biologia vegetal*.
- Ridley HN (1930) *The Dispersal of Plants Throughout the World*, Limited. doi: 10.2307/2255951
- Robinson RW and Decker-Walters DS (2011) *Crop Production Science in Horticulture*.
- Sanchotene M do CC (1989) *Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana.*, 2nd ed. Sagra, Porto Alegre
- Santos MAC, Queiroz MA, Santos ADS, Santos LC and Carneiro PCS (2014) Diversidade genética entre acessos de araçá de diferentes municípios do Semiárido baiano. *Revista Caatinga* 27:48–57.
- Schaefer MH, Schaefer V and Vorobyev M (2007) Are Fruit Colors Adapted to Consumer Vision and Birds Equally Efficient in Detecting Colorful Signals? *The American Naturalist* 169:S159–S169.
- Schweiggert RM, Vargas E, Conrad J, Hempel J, Gras CC, Ziegler JU, Mayer A, Jiménez V, Esquivel P and Carle R (2016) Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-, and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 200:274–282.
- Simonin KA and Roddy AB (2018) Genome downsizing, physiological novelty, and the global dominance of flowering plants. *PLOS Biology* 16:e2003706.
- Sinnott-Armstrong MA, Downie AE, Federman S, Valido A, Jordano P and Donoghue MJ (2018) Global geographic patterns in the colours and sizes of animal-dispersed fruits. *Global Ecology and Biogeography* 27:1339–1351.
- Smeriglio A, Barreca D, Bellocco E and Trombetta D (2016) Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytotherapy Research* 30:1265–1286.

Snow DW (1971) EVOLUTIONARY ASPECTS OF FRUIT-EATING BY BIRDS. *Ibis* 113:194–202.

Sun T, Xu Z, Wu C-T, Janes M, Prinyawiwatkul W and No HK (2007) Antioxidant Activities of Different Colored Sweet Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science* 72:S98–S102.

Surget-Groba Y and Montoya-Burgos JI (2010) Optimization of de novo transcriptome assembly from next-generation sequencing data. *Genome Research*. doi: 10.1101/gr.103846.109

Tanaka Y and Ohmiya A (2008) Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways. *Current Opinion in Biotechnology* 19:190–199
Tanaka Y, Sasaki N and Ohmiya A (2008) Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal* 54:733–749.

Teyssier E, Boureauv L, Chen W, Lui R, Degraeve-Guibault C, Stammitti L, Hong Y and Gallusci P (2015) Epigenetic regulation during fleshy fruit development and ripening. *Applied Plant Genomics and Biotechnology*. Elsevier Inc., pp 132–151

Tiffney BH (1984) Seed Size, Dispersal Syndromes, and the Rise of the Angiosperms: Evidence and Hypothesis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71:551.

Tuler AC, Carrijo TT and Peixoto AL (2019) New synonyms and typifications in *Psidium* species (Myrtaceae) described by João Rodrigues Mattos and the importance of maintaining scientific collections. *Phytotaxa*. doi: 10.11646/phytotaxa.400.5.6

Wachowiak W, Balk P a. and Savolainen O (2009) Search for nucleotide diversity patterns of local adaptation in dehydrins and other cold-related candidate genes in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Genetics & Genomes* 5:117–132.

Wang L, Li J, Zhao J and He C (2015) Evolutionary developmental genetics of fruit morphological variation within the solanaceae. *Frontiers in Plant Science* 6:1–10.

Wang Z, Gerstein M and Snyder M (2009) RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics* 10:57.

Wei H, Chen X, Zong X, Shu H and Gao D (2015) Comparative Transcriptome Analysis of Genes Involved in Anthocyanin Biosynthesis in the Red and Yellow Fruits of Sweet Cherry (*Prunus avium* L .). 1–20.

Wikler C (1999) Distribuição geográfica mundial de *Psidium cattleianum* Sabine e um cecidógeno com possibilidades de utilização em controle biológico.

Winkel BSJ (2004) METABOLIC CHANNELING IN PLANTS. *Annual Review of Plant Biology* 55:85–107.

Zhang YL, Fang ZZ, Ye XF and Pan SL (2018) Identification of candidate genes involved in anthocyanin accumulation in the peel of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruits by transcriptomic analysis. *Gene* 676:202–213.

Zhao H, Zhang S, Wang F, Zhao N, He S, Liu Q and Zhai H (2018) Comparative transcriptome analysis of purple-fleshed sweet potato provides insights into the molecular mechanism of anthocyanin biosynthesis. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering* 5:214–225.