



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

RAMON DA SILVA DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO DA FAMÍLIA GÊNICA TERPENO SINTASE E O SEU PAPEL
EM RESPOSTA A PRIVAÇÃO DE ÁGUA EM *Stylosanthes scabra***

RECIFE

2025

RAMON DA SILVA DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO DA FAMÍLIA GÊNICA TERPENO SINTASE E O SEU PAPEL
EM RESPOSTA A PRIVAÇÃO DE ÁGUA EM *Stylosanthes scabra***

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de Bacharel
em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências
Ambientais

Orientadora: Dra. Ana Maria Benko Iseppon
Coorientador: Dr. Jose Ribamar Costa Ferreira
Neto

RECIFE

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

de Souza, Ramon da Silva.

Caracterização da família gênica terpeno sintase e seu papel na resposta ao déficit hídrico em *Stylosanthes scabra* Vogel / Ramon da Silva de Souza. - Recife, 2025.

62 : il., tab.

Orientador(a): Ana Maria Benko Iseppon

Coorientador(a): José Ribamar Costa Ferreira Neto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências Ambientais - Bacharelado, 2025.

9,45.

Inclui referências, apêndices.

1. Estresse abiótico. 2. Expressão gênica. 3. Fabaceae. 4. Fisiologia. 5. Metabolitos secundários. 6. Tolerância a seca. I. Benko Iseppon, Ana Maria . (Orientação). II. Costa Ferreira Neto, José Ribamar . (Coorientação). IV. Título.

500 CDD (22.ed.)

RAMON DA SILVA DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO DA FAMÍLIA GÊNICA TERPENO SINTASE E O SEU PAPEL
EM RESPOSTA A PRIVAÇÃO DE ÁGUA EM *Stylosanthes scabra***

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de Bacharel
em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências
Ambientais

Aprovado em: 27/03/2025.

COMISSÃO EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
JOSE RIBAMAR COSTA FERREIRA NETO
Data: 08/04/2025 15:23:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. José Ribamar Costa Ferreira Neto (Coorientador)
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
MANASSES DANIEL DA SILVA
Data: 10/04/2025 08:28:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Manasses Daniel da Silva
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
ANA LUIZA TRAJANO MANGUEIRA DE MELO
Data: 09/04/2025 09:45:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Ana Luíza Trajano Manguiera de Melo
Universidade Federal de Pernambuco

Para meus pais, M^a do Rosário e Severino, que
enfrentaram os dias mais árduos para garantir
que os meus fossem mais leves.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me dado força, perseverança e me guiando nos momentos desafiadores para concluir mais uma etapa na jornada acadêmica.

Sou igualmente grato à minha família, aos meus pais, Maria do Rosário da Silva e Severino do Ramos Oliveira de Souza, cujo apoio incondicional, paciência e incentivo foram fundamentais em cada fase desse árduo percurso. Aos meus tios e tias, que sempre estiveram presentes com palavras de encorajamento, oferecendo suporte nos momentos desafiadores.

Aos membros Laboratório de Genética e Biologia Vegetal, manifesto meu reconhecimento por toda a aprendizagem, acolhimento e colaboração ao longo desses anos. Sobretudo, agradeço a Elayne Vilanova cujo apoio, companheirismo e compartilhamento de conhecimentos, foram essenciais para meu crescimento acadêmico, além de tornando os dias mais leves e produtivos.

À minha orientadora, Prof^a.Dr^a. Ana Maria Benko Iseppon, e em especial, meu co-orientador, Dr. José Ribamar Costa Ferreira Neto, agradeço imensamente por sua dedicação, paciência e valiosas contribuições, quais foram essências na realização dessa monografia.

Agradeço também à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por proporcionar um ambiente acadêmico acolhedor, bem como aos professores que compartilharam seu conhecimento e contribuíram significativamente para minha formação.

Expresso meu especial reconhecimento ao Departamento de Micologia e ao Laboratório de Ecologia e Evolução de Micro Fungos, que generosamente me acolheram e me fizeram sentir parte da equipe. Sou grato aos companheiros de laboratório que tornaram essa experiência ainda mais enriquecedora, contribuindo e tornando cada dia único. Em especial, Adrielly Chagas, Daniele Assis, Deyse Viana, Erick Silva, Oliver Vieira, Rejane Silva e Thays Oliveira. Com imenso respeito e profunda admiração, agradeço ao Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva por seu incentivo constante e por não permitir que eu desistisse dos meus objetivos, mesmo diante dos desafios.

Aos meus amigos, que estiveram ao meu lado em cada etapa, deixo minha gratidão. A Juliane, Mateus, Willanny e Wendell, por mais de uma década de amizade e apoio incondicional. Ismaelene, Laura, e Tiago, por compartilharem momentos inesquecíveis e sendo fonte de motivação. E aos amigos que permaneceram junto a mim durante toda a graduação – Camila Vicente, Gabriel Silva, Lucas Silva, M^a Fernanda Araújo, Mirelle Araújo e Rhabersh Pascoal – agradeço pela amizade, parceria e incentivo, que tornaram essa jornada mais leve e especial.

“Sinto medo. Não dá vida ou da morte ou do nada, mas de desperdiçá-la como nunca tivesse existido.” Daniel Keys.

RESUMO

Os terpenoides representam uma das classes mais abundantes de metabólitos secundários vegetais, desempenhando funções essenciais na ecologia, defesa e regulação fisiológica de plantas. Dentre as espécies de interesse agrônômico, *Stylosanthes scabra* destaca-se como modelo promissor para estudos genômicos aplicados, devido à sua relevância socioeconômica, resistência a estresses abióticos (como o déficit hídrico) e potencial para identificação de genes candidatos a programas de melhoramento genético. Este estudo integrou análises *in silico* de genômica estrutural e transcriptômica para caracterizar a família de terpeno sintases (TPS) em *S. scabra*. Foram investigados: (1) a organização genômica e a diversidade de genes TPS putativos, (2) as relações filogenéticas entre as subfamílias de TPS, e (3) o perfil de expressão transcricional sob condições de suspensão hídrica. Mediante buscas homológicas (BLASTp) e modelagem de domínios conservados (HMMER), identificaram-se 42 sequências putativas de TPS contendo os domínios Pfam característicos (PF01397 e PF03936). A análise filogenética revelou a presença de representantes de todas as subfamílias de TPS reportadas em angiospermas, com predominância dos clados TPS-a (associado à biossíntese de sesquiterpenos citosólicos) e TPS-b (relacionado a monoterpenos plastidiais). A conservação evolutiva do motivo DDxxD – crítico para a atividade catalítica – foi confirmada por alinhamento múltiplo, exceto em membros da subfamília TPS-c, corroborando padrões conhecidos em eudicotiledôneas. No perfil transcricional, observou-se repressão significativa da maioria dos transcritos de TPS em raízes sob déficit hídrico, sugerindo regulação negativa da via terpenoide em resposta ao estresse osmótico. Este padrão contrasta com relatos em espécies xerófitas, levantando questões sobre estratégias adaptativas específicas em *S. scabra*. Como primeira investigação abrangente das TPS no gênero *Stylosanthes*, este trabalho não apenas amplia o conhecimento sobre a diversidade genética dessa família enzimática, mas também fornece insights sobre sua modulação transcricional sob estresse. A caracterização estrutural dos genes SscTPS constitui um recurso valioso para futuros estudos funcionais e aplicações biotecnológicas visando à tolerância hídrica em cultivos.

Palavras-chave: Estresse abiótico, Expressão gênica, Fabaceae, Metabólitos secundários, Tolerância à seca

ABSTRACT

Terpenoids represent one of the most abundant classes of plant secondary metabolites, playing essential roles in plant ecology, defense, and physiological regulation. Among agronomically relevant species, *Stylosanthes scabra* emerges as a promising model for applied genomic studies due to its socioeconomic importance, tolerance to abiotic stresses – particularly water deficit – and potential for identifying candidate genes for breeding programs. This study integrates in silico structural genomics and transcriptomic analyses to characterize the terpene synthase (TPS) gene family in *S. scabra*. Specifically, we investigated (1) the genomic organization and diversity of putative TPS genes, (2) the phylogenetic relationships among TPS subfamilies, and (3) the transcriptional expression profile under water suspension conditions. Through homology searches (BLASTp) and conserved domain modeling (HMMER), we identified 42 putative TPS sequences containing the characteristic Pfam domains (PF01397 and PF03936). Phylogenetic analysis revealed representatives of all TPS subfamilies reported in angiosperms, with a predominance of the TPS-a clade (associated with cytosolic sesquiterpene biosynthesis) and TPS-b (linked to plastidial monoterpenes). The evolutionary conservation of the DDxxD motif—critical for catalytic activity—was confirmed through multiple sequence alignment, except in TPS-c subfamily members, corroborating previously established patterns in eudicots. Transcriptional profiling indicated a significant repression of most TPS transcripts in roots under water deficit, suggesting a negative regulation of the terpenoid biosynthetic pathway in response to osmotic stress. This pattern contrasts with reports from xerophytic species, raising questions about species-specific adaptive strategies in *S. scabra*. As the first comprehensive investigation of TPS genes within the *Stylosanthes* genus, this study not only expands current knowledge on the genetic diversity of this enzyme family but also provides insights into its transcriptional modulation under stress conditions. The structural characterization of SscTPS genes represents a valuable resource for future functional studies and biotechnological applications aimed at improving drought tolerance in forage crops.

Keywords: Abiotic stress, Gene expression, Fabaceae, Physiology, Secondary metabolites, Drought tolerance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Características morfológicas da <i>S.scabra</i> . Em (A) coloração das flores, (B) imparipinaridade das folhas, (C e D) fruto pubescente e sementes reniforme.	16
Figura 2 –	Origem da alotetraploidia da espécie <i>Stylosanthes scabra</i> .	17
Figura 3 –	Distribuição potencial da espécie <i>Stylosanthes scabra</i> em suas formas nativa e introduzida nos diferentes países.	18
Figura 4 –	Terpenoides e seus homólogos atuando para a defesa das plantas, ajudando a regular a resistência ao estresse biótico, como ataques de insetos e infecções por doenças.	23
Figura 5 –	Derivação dos precursores IPP e DMAPP, formados pelas vias MVA e MEP. A condensação desses precursores gerando GPP (C10), FPP (C15) e GGPP (C20), que são convertidos e monoterpênos, sesquiterpênos e diterpênos por terpene sintases (TPS).	25
Figura 6 –	Árvore filogenética de 42 SscTPSs, AtTPSs e 53 PotriTPSs. A árvore foi construída pelo método de máxima verossimilhança. Vermelho, verde-escuro, azul-celeste, rosa e verde-claro representam as subfamílias do TPS-a, TPS-b, TPS-c, TPS-e/f e T	32
Figura 7 –	Mapa de distribuição bimodal da massa molecular (KDa) e do ponto isoelétrico (pI) das subfamílias TPSs. O eixo X indica o ponto isoelétrico e o eixo Y representa a massa molecular.	34
Figura 8 –	Relação filogenética, estrutura íntron/éxon e análise de motivos de SscTPSs. (A) Relações filogenéticas de SscTPSs; (B) Distribuição exon/íntron de SscTPSs; (B) Os motivos conservados de SscTPSs; (C) Motivos conservados de SscTPSs; (D) Domínio	38
Figura 9 –	Alinhamento delimitado de sequências de aminoácidos para motivos conservados em terpeno sintase no genoma de <i>S. scabra</i>	39
Figura 10 –	Análise de enriquecimento funcional da ontologia genética (GO) e análise da via da enciclopédia de genes e genomas de Kyoto (KEGG) de genes diferencialmente expressos. (A) Gráfico de termos GO com relação ao SscTPSs; (B) Gráfico em barra processos biológicos GO; (C) Gráfico de rosca KEGG.	41
Figura 11 –	Heatmap com expressão diferencial dos transcritos. Membros que apresentaram Fold change > 2,5, p-value e FDR <0.05 foram indicados com (*).	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Tabela comparativa da família terpeno sintase em diferentes espécies.	35
Tabela 2 –	Comprimento total da sequência (CDS) Tamanho da proteína (aa), ponto isoelétrico (pI), massa molecular (MW), localização subcelular das SscTPSs e índice de hidropaticidade média (GRAVY), de <i>S. scabra</i> .	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ArTPS	Terpeno sintase de <i>Arabidopsis thaliana</i>
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i> ; Ferramenta de Busca por Alinhamento Local
CD-Search	<i>Conserved Domain Search Service</i> ; Serviço de Pesquisa de Domínio Conservado
DMAPP	Difosfato de dimetilalila
FPP	Farnesila
GGPP	Difosfato de geranilgeranila
GPP	Difosfato de geranila
HMM	<i>Hidden Markov Modelo</i>
IPP	Difosfato de isopentenila
kDa	<i>Kilodalton</i>
MEGA	<i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i> ; Análise Molecular de Genética Evolutiva
MEME	<i>Multiple Em for Motif Elicitation</i>
PM	Peso Molecular
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i> ; Centro Nacional para Informação Biotecnológica
NJ	<i>Neighbor Joining</i>
PI	Ponto Isoelétrico
RNA-Seq	<i>RNA sequencing</i> ; Sequenciamento de RNA
SscTPS	Terpeno sintase de <i>Stylosanthes scabra</i>
TPS	Terpeno sintase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	OBJETIVOS.....	16
1.1.1	Objetivo geral.....	16
1.1.2	Objetivos específicos.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1	Semiárido brasileiro.....	17
2.2	Aspectos gerais de <i>Stylosantes Scabra</i>	19
2.2.1	Distribuição geográfica e importância econômica de <i>S.scabra</i>	21
2.3	Mecanismos de respostas vegetais frente a estresses abióticos.....	24
2.3.1	Família gênica TPS e seu papel na defesa vegetal frente a estresses ecológicos.....	24
2.4	Ômicas e sua disponibilidade informacional para <i>S.scabra</i>	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1	Análises de genômica estrutural.....	31
3.1.2	Mineração e identificação de genes TPS em <i>Stylosanthes scabra</i>	31
3.1.3	Características dos genes TPS.....	31
3.1.4	Propriedades proteicas e localização subcelular.....	31
3.1.5	Estrutura genética, identificação de motivos conservados e análise filogenética.....	32
3.1.6	Análise de termos GO e vias KEGG.....	32
3.2	Análise transcritômica	32
3.2.1	Mineração e identificação de genes TTPS em transcriptoma de <i>S.scabra</i>	32
3.2	Análise de expressão diferencial <i>in silico</i>	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	Identificação dos genes TPS no genoma da <i>S. scabra</i>	34
4.2	Análise das propriedades físico-química presentes em genes SscTPS.....	36
4.3	Estruturas genética e domínios proteicos conservados de SscTPS.....	40
4.4	Anotação funcional dos genes SscTPS.....	45
4.5	Expressão diferencial de genes de SscTTPS em resposta a privação de água.....	47
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	APÊNDICE.....	62

1 INTRODUÇÃO

Fatores ambientais podem atuar de forma agravante no desenvolvimento e produtividade de cultivares, além de intervir no ecossistema, biodiversidade e na segurança alimentar (Shahzad *et al.*, 2021). Possuindo potencial limitante, a seca é um dos principais fatores responsáveis por impactar no crescimento e desenvolvimento vegetal (Ahmadi *et al.*, 2024), podendo promover alterações moleculares, bioquímicas e fisiológicas na tentativa do organismo vegetal mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico (Spanic *et al.*, 2025).

Apresentando baixos padrões pluviométricos, o semiárido brasileiro é marcado por secas periódicas e ampla flutuação na distribuição anual de precipitação (Santos *et al.*, 2024). Nesse contexto, a alta adaptabilidade a condições ambientais extremas, possibilita analisar recursos gênicos, presente em plantas nativas da região, afim de identificar genes associados a resistência à seca, altas temperaturas e os mais variados níveis de estresses (Chandra, 2013; Pessoa *et al.*, 2021).

Nesse contexto, em virtude de sua notável capacidade de adaptação a ambientes desfavoráveis, resistência a pressões bióticas e abióticas, bem como elevada tolerância à seca, o gênero *Stylosanthes* (Sw.) tem sido amplamente estudado desde a década de 1970 (Reddy *et al.*, 2024). Dessa forma, espécies desse gênero destacam-se como modelos promissores para a identificação de genes com potencial aplicação em programas de melhoramento genético (Ferreira-Neto *et al.*, 2022).

Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram notáveis variedades de mecanismos adaptativos de defesa mediados por hormônios vegetais (Gua *et al.*, 2024), como o ácido jasmônico e o ácido salicílico, que regulam respostas contra herbivoria e patógenos (Sultana *et al.*, 2024), além do etileno, ácido abscísico e giberelina, envolvidos na tolerância a estresses ambientais, atuando como reguladores em diferentes processos biológicos vegetais, como o crescimento (Acharya *et al.*, 2024), expansão foliar (Zhumanova *et al.*, 2024), redução da taxa de transpiração, condutância estomática (Pizzio *et al.*, 2024) e senescências (Xing *et al.*, 2024), contribuindo na tentativa de prosperar em ambientes antes inóspitos (Amist; Narsingh *et al.*, 2024).

Dessa forma, diante de uma situação de estresse, plantas podem sintetizar metabólitos secundários denominadas de terpenoides, uma das classes mais diversas de compostos naturais (Jiang *et al.*, 2024). Nesse sentido, os organismos vegetais podem produzir tais enzimas com a finalidade de funções primárias ou secundárias, as quais codificam a síntese de monoterpene (C10), sesquiterpene (C15) ou diterpenos (C20), como difosfato de dimetilalila, difosfato de

geranila e difosfato de geranilgeranila, respectivamente (Kumar *et al.*, 2024), podendo atuar de forma precursora na formação de hormônios vegetais, como ácido abscísico, giberelinas e brassinosteroides, assim como na formação de pigmentos fotossintéticos (clorofilas, carotenoides), além de poder sinalizar de forma eficiente estresses ambientais (Sun *et al.*, 2016), incluindo a seca (MA *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2019).

Diante disso, estudos envolvendo a família gênica das terpeno sintases têm demonstrado a ocorrência de expressão diferencial desses genes em diversas espécies vegetais, sugerindo uma regulação dinâmica sob condições adversas (Ma *et al.*, 2024). Podendo essas serem suprimidas quando impostas a curta e média exposição a estresses abióticos (Zhou *et al.*, 2020), qual podem ser impactadas pela carência hídrica, ou diante a outros fatores ambientais (Chen *et al.*, 2021). Além disso, os transcritos podem apresentar baixa expressão transcricional em raízes quando comparada a outras regiões vegetais pontuando a especificidade tecidual dessa regulação (Li *et al.*, 2021).

Portanto, por apresentar tolerância frente aos mais variados níveis de estresses, plantas, especialmente as nativas (Coelho *et al.*, 2024), tornam-se modelos vegetais fundamentais na análise de genes e produtos gênicos que visam executar funções no crescimento, desenvolvimento e adaptação, quando submetidos a condições ambientais estressantes, a exemplo do déficit hídrico (Liu *et al.*, 2024). Dessa maneira, a abordagem desses recursos genéticos toma particular relevância, tendo em vista as significativas perdas na produtividade agrícola em diversos países em decorrência desses fatores (Hernández-López; Andrade; Barrios, 2024).

Diante disso, o trabalho teve como proposta analisar genes TPSs presentes no genoma de *S.scabra*, identificando de forma sistemática sua estrutura, localização subcelular, motivos conservados, análise filogenética, além de investigar a expressão no transcriptoma radicular submetido a privação de água.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos gerais

Executar estudos de genômica estrutural dos genes TPS no genoma de *S.cabra*, identificar todos os seus transcritos e avaliar a sua expressão no transcriptoma de acessos resistentes da referida espécie submetidos à privação de água.

1.1.2 Objetivos específicos

- Minerar e identificar enzimas TPS no genoma de referência de *S.scabra*;
- Caracterizar a estrutura gênica dos referidos TPS e de seus produtos proteicos;
- Analisar os mecanismos responsáveis pela expansão de genes TPS no genoma de *S. scabra*;
- Estudar a orquestração transcricional dos genes TPSs em acessos resistentes de *S. scabra* submetidos a seca;
- Identificar os processos biológicos dos quais participam os TPSs diferencialmente expressos resposta as condições analisadas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Regiões sazonalmente secas cobrem uma extensa porção do território terrestre, representando aproximadamente 40% da superfície global (Silva *et al.*, 2024). Essas áreas estão sujeitas a variações climáticas significativas, aumentos nas temperaturas e variações espaciais e temporais das precipitações pluviais, resultando na intensificação das condições de aridez nessas regiões (Dubeux *et al.*, 2021). Dentro desse cenário, o semiárido brasileiro representa 12% da área nacional e 74,3% da região Nordeste, conhecida como "Polígono das Secas" (Instituto Nacional do Semiárido, 2014; Medeiros *et al.*, 2021).

Localizado predominantemente na região Nordeste, o semiárido é considerado um domínio macrogeológico no litoral do Brasil, sua extensão abrange as áreas dos estados do Bahia, Ceará, Mina Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe e Rio Grande do Norte, totalizando uma extensão de (1.143.491 de km²) ocupando 1.262 municípios brasileiros, os quais abrangem uma população de 22 milhões de habitantes, por conseguinte, o mais populoso do mundo (Medeiros *et al.*, 2020).

Ainda que possua de 12% de toda a água disponível na superfície, o Brasil apresenta uma distribuição hídrica irregular, de modo que, regiões com baixos índices de habitantes, a exemplo do Norte, onde vivem 7% da população brasileira, é detentora de 72% do potencial hídrico nacional, todavia, o nordeste brasileiro, com 28% da população, apresenta 3% desse potencial (Leite *et al.*, 2020)

Desse modo, embora o domínio climático do semiárido brasileiro apresente características complexas, decorrentes de aspectos geofísicos, ocupação humana e intensa exploração de seus recursos naturais, a região é caracterizada por apresentar padrões pluviométricos variáveis e imprevisíveis (Amorim; Santos, 2024). O semiárido brasileiro distingue-se pela periodicidade das secas e pela distribuição irregular de sua precipitação anual, oscilando entre 250 e 800 mm, com temperaturas médias que variam entre 24 °C e 28 °C (Borges *et al.* 2020), podendo, em algumas áreas, superar os 30 °C e alcançar até 40 °C em regiões específicas (Governo Federal, 2023). O clima apresenta curtos períodos de chuvas, distribuídos normalmente entre os meses de dezembro e junho, tendo sua concentração entre os meses de fevereiro, março e abril (Amorim; Santos, 2024; Carvalho, 2020).

Embora sua alta umidade relativa quando comparada a demais regiões semiáridas, o semiárido brasileiro traz consigo problemas crônicos de déficit hídrico, sendo influenciados por fenômenos oceânico-climáticos, a exemplo da atuação do Dipolo do Atlântico, *El Niño* e a Zona de convergência oceânica, podendo ocorrer variações no prolongamento da estiagem (Araújo, 2021; Sousa *et al.*, 2023; Fonseca; Nascimento; Medeiros, 2022; Leite; Filho, 2021; Monteiro, 2022). Essa complexa dinâmica climática influencia diretamente na vegetação predominante na região, que é envolto por dois extensos biomas, Cerrado e a Caatinga, sendo essa de caráter dominante (Silva *et al.*, 2024).

Originário do tupi-guarani, “Caatinga” tem seu sentido literal, “floresta branca”, baseado na estação seca, qual promove a queda e esquelitização das folhas e troncos, fomentando características esbranquiçadas e refulgentes, na paisagem seca do bioma (Silva *et al.*, 2021). Responsável na ocupação de 10% do território nacional, assim como 70% da região nordeste, a Caatinga é conhecida por ser o bioma exclusivamente brasileiro, desempenhando um papel crucial na manutenção da biodiversidade e na sustentabilidade ambiental do país (Lacerda, 2024). Todavia, apesar de sua importância ecológica, a Caatinga tem sido historicamente subestimada e negligenciada tanto em políticas de conservação quanto em pesquisas científicas, considerada uma área de baixa importância (Lessa *et al.*, 2019), resultando em déficit de interesse na coleta de dados, em uma vegetação ainda pouco conhecida e altamente ameaçada (Oliveira *et al.* 2020). Esse desinteresse pela coleta de dados contribui para a perpetuação de uma percepção equivocada sobre o bioma (Ramos *et al.*, 2020). Não obstante, a negligência que tange a Caatinga subestima seu potencial biotecnológico, qual pode resultar na supressão de serviços ecossistêmicos essenciais (Santana, Oliveira, Albuquerque, 2025), bem como na subutilização de sua riqueza genética, que poderia ser explorada para aplicações medicinais, agrícolas e industriais (Nascimento *et al.*, 2024).

Composta majoritariamente por vegetações arbóreas e arbustivas, a Caatinga fornece recursos essenciais para a subsistência e a economia local, fornecendo alimentos, medicamentos e insumos, muitas das vezes de caráter endêmico da própria região (Fernandes; Cardoso; Queiroz, 2020). Essa riqueza biológica, adaptada a condições ambientais extremas, não apenas sustenta as comunidades locais, mas também apresenta um grande valor científico (Kavouras; Meireles, 2024). A biodiversidade da Caatinga é adaptada a condições ambientais extremas, o que a torna um laboratório natural para o estudo da resiliência ecológica e da adaptação das espécies às mudanças climáticas que permitem a sobrevivência em um ambiente semiárido (Pessoa *et al.*, 2021).

Em suma a diversidade genética de plantas nativas é vultosa, quando comparadas às espécies de uso econômico, nesse contexto, a alta adaptabilidade de condições ambientais extremas possibilita a análise de seus recursos gênicos, revelando genes associados à resistência à seca, altas temperaturas e solos pobres em nutrientes (Ferreira-Neto *et al.*, 2023). Toda via, em território nacional, há escassez de levantamentos referente aos recursos gênicos providos por tais espécies, quais podem fornecer meios que potencialmente permitem a integração entre o campo da biotecnologia e da agricultura, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes e promovendo a segurança alimentar em regiões semiáridas (Pádua *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2022).

2.2 ASPECTOS GERAIS DE *Stylosantes scabra*

A família Fabaceae, comumente conhecida como Leguminosa, é uma das maiores e mais significativas famílias botânicas, ocupando a terceira posição entre as maiores famílias de plantas, ficando atrás apenas das Asteraceae e Orchidaceae em de número de espécies (Legume Phylogeny Working Group *et al.*, 2017). Distribuída entre 19.581 representantes e cerca de 767 gêneros, as Fabaceae possuem distribuição cosmopolita, com exceção na Antártica e o alto Ártico, ocupando ambientes distintos das regiões temperadas, tropicais e subtropicais, tendo maior riqueza em florestas neotropicais (Maroyi, 2023).

Dentre as subfamílias da Fabaceae, a Papilionoideae se destaca por englobar 70% dos representantes, totalizando cerca de 14.000 espécies distribuídas em 504 gêneros e 28 tribos (Legume Phylogeny Working Group, 2017). Essa subfamília representa grande parte da diversidade das leguminosas na Caatinga, onde estão presentes 605 espécies e 128 gêneros (Sinani *et al.*, 2019). Nesse contexto, no semiárido brasileiro, *Stylosanthes* (Sw.) se destaca por sua significativa diversidade e endemismo. Aproximadamente 65% das espécies desse gênero registradas ocorrem no território nacional, das quais 30 espécies foram catalogadas e, desse montante, 12 são consideradas endêmicas (Gissi, 2024; Santos-Garcia *et al.*, 2012; Stace; Cameron, 1984).

O gênero encontra-se inserido na tribo Dalbergieae e na subfamília Papilionoideae, a qual evidencia espécies arbóreas, lianas e herbáceas, todas adaptadas às condições adversas do semiárido brasileiro (Ferreira-Neto *et al.*, 2023; Medeiros; Flores, 2014; Mohlenbrock, 1957). Assim como corroborado por miríades de levantamentos taxonômicos do gênero *Stylosanthes* em território nacional, conforme Brandão e Costa (1979) para Minas Gerais; Costa; Sartori e

Pott (2008), Mato Grosso do Sul; Lewis (1987), Kiria *et al.*, (2002), no Cerrado; Medeiros e Flores (2014), Roraima e São Mateus *et al.*, (2013), Rio Grande do Norte.

A *S. scabra* expressa porte subarbustivo, com variações entre 0,7-1m de altura, apresenta caule lenhoso, glandulares, pubescentes, podendo a tonalidade variar de verde claro a marrom ou avermelhado em fases juvenis, enquanto os caules mais velhos são marrons ou acinzentados (Costa, Leila Carvalho Da; Sartori; Pott, 2008). Suas folhas apresentam estruturas trifoliadas, com seus folíolos entre 8 a 21 mm de comprimento e 2 a 7 mm de largura, bablongo-elíptico, piloso-setosos, elípticos e com base e ápice agudos (Fortuna-Perez; Silva; Tozzi, 2011). As flores são curtas e capitadas, sem a presença de pedúnculos, cinco sépalos de 4-6mm, cálices se 3 a 7mm de comprimento, pétalas entre 3-6mm de comprimento e dez pequenos estames, que se fundem entre si, um ovário encimado por estilete e estigma (Costa *et al.*, 2006). A pétala superior sendo maior que o par de pétalas laterais. O fruto pequeno (8-9,5 mm de comprimento e 2-2,5 mm de largura), tipo lomento com dois artículos férteis, pubescentes e encimados por um pequeno bico em forma de gancho (1,5-2 mm de comprimento), contendo sementes marrom-claras (até 2 mm de comprimento), formato reniformes (Karia *et al.*, 2008) (Figura 1).

Figura 1. Características morfológicas da *S.scabra*. Em (A) coloração das flores, (B) imparipinaridade das folhas, (C e D) fruto pubescente e sementes reniforme.

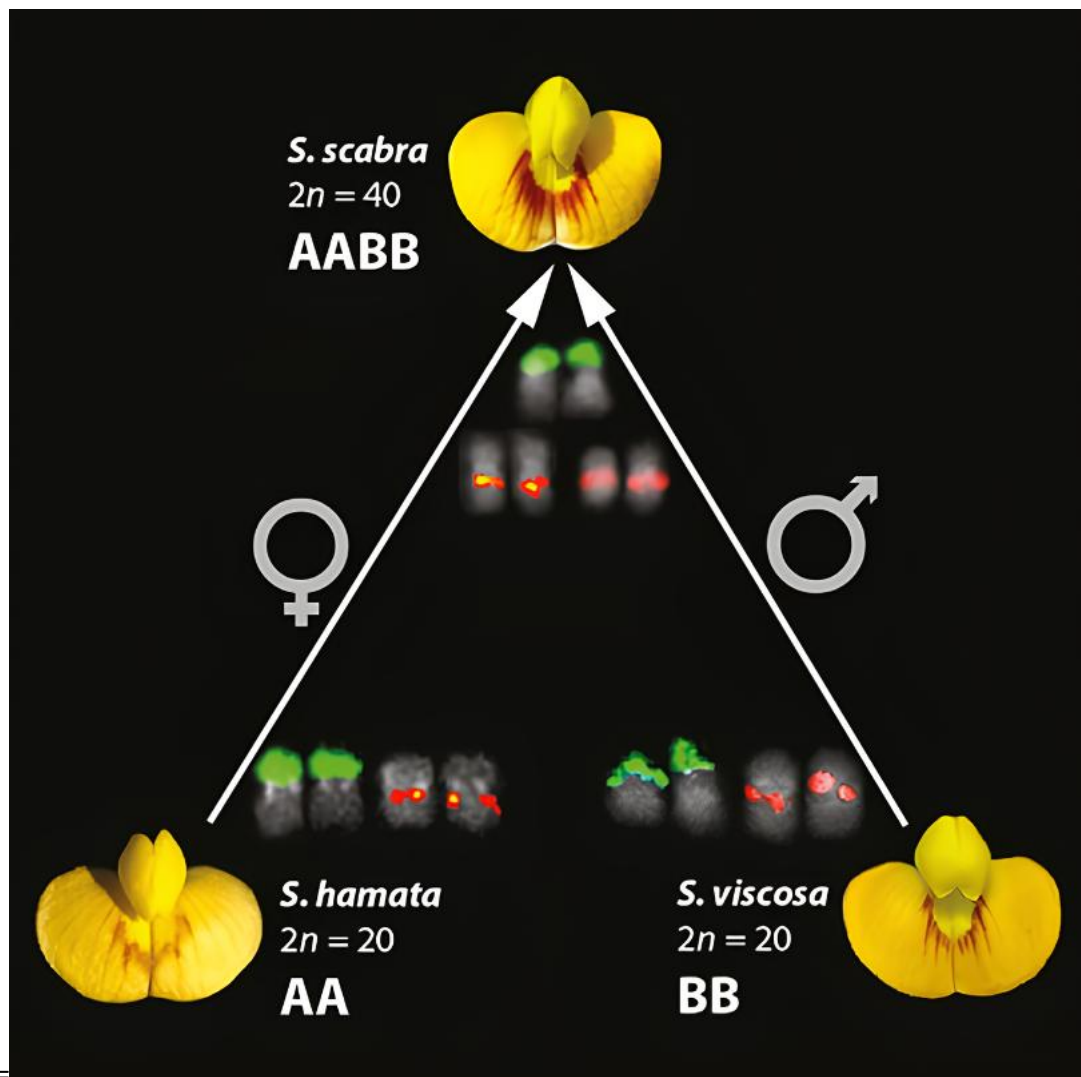


Fonte: Adaptado de Tropical Forages, 2020.

Convém destacar que, por apresentar características alotetraploides ($2n = 4x = 40$), *S.scabra* é uma das espécies mais exploradas em relação à alopoliploidia do gênero (Cameron; Chakraborty, 2004; Marques *et al.*, 2018b). Embora a hibridização envolvida na formação do

genoma da espécie ainda seja debatida, há indícios de que sua origem esteja associada à aloploidia envolvendo *S. hamata*, *S. seabrana* e *S. viscosa* (L.) (Figura 2). Apesar do papel diploide de *S. seabrana* na origem da *S. scabra* ser comprovado, o envolvimento de *S. hamata* como progenitor materno, responsável pela transferência do genoma A, ainda requer investigação detalhada (Chandra, 2013; Chandra; Kaushal, 2009; Liu; Musial, 2001; Liu; Musial; Thomas, 1999; Vander *et al.*, 2002).

Figura 2. Origem da alotetraploidia da espécie *Stylosanthes scabra*.



Fonte: Assiry, 2019; Marques *et al.*, 2018

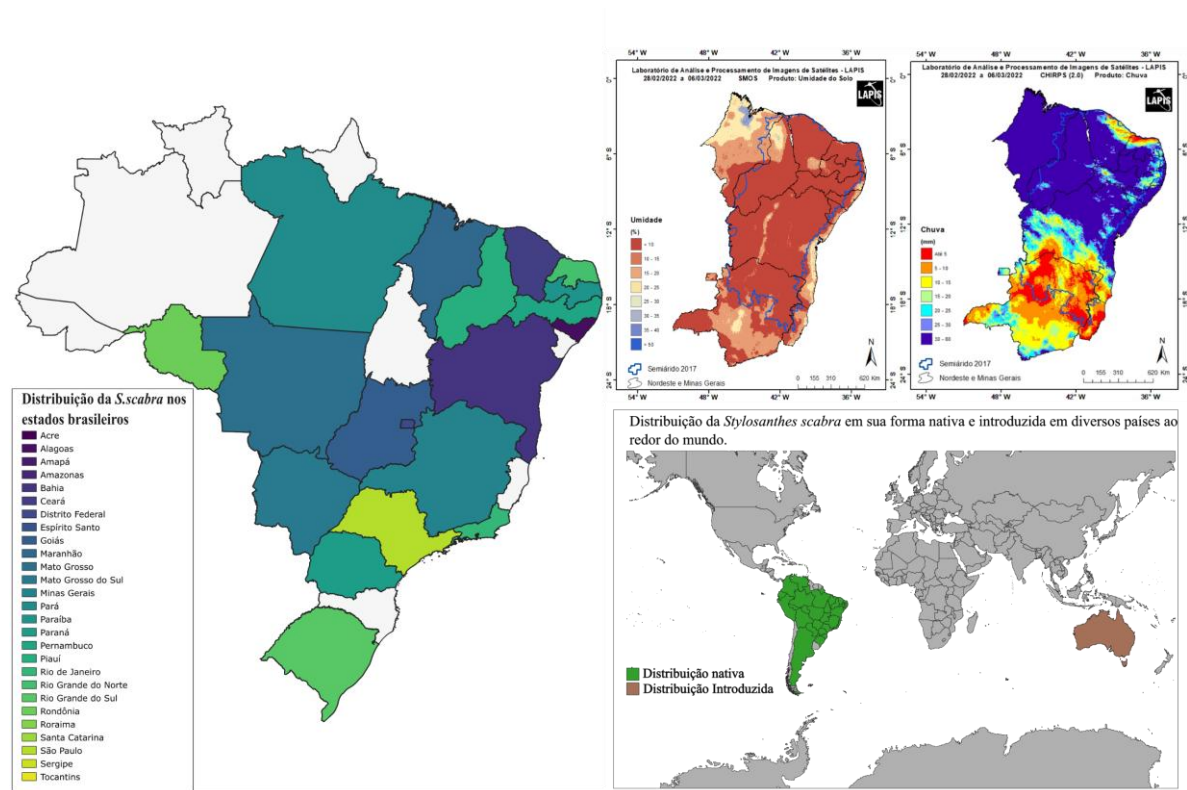
2.2.1 Distribuição geográfica e importância econômica de *S. scabra*

Embora nativa, porém não endêmica do Brasil, *S. cabra* é conhecida por ser altamente diversificada, presente em regiões tropicais e subtropicais da Argentina, Brasil, Bolívia,

Colômbia, Equador, Paraguai, Peru, Porto Rico e Venezuela, além disso, a espécie também foi introduzida na Austrália e distribuída nos estados de *Marquesas*, *Northern Territory*, *Queensland*, *Western Australia*, tal qual aflui no estado do *Havaí* (Estados Unidos) (Brandão *et al.*, 2024) (Figura 3).

No Brasil tem ocorrência registrada nas regiões Norte (Pará, Roraima), Nordeste (Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte), Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Rio Grande do Sul), conforme Brandão *et al.*, (2024) (Figura 03). Para o seu desenvolvimento, a espécie requer solos com boa drenagem e áreas com exposição solar adequada (Diniz *et al.*, 2023). Sua adaptação a diferentes condições climáticas faz de *S. scabra* uma planta versátil e de grande interesse para a agropecuária (Nithya *et al.*, 2024), especialmente em sistemas de integração lavoura-pecuária, como insumo nutricional na formulação de dietas para ruminantes (Mpanza; Hassen; Akanmu, 2020).

Figura 3. Distribuição potencial da espécie *Stylosanthes scabra* em território brasileiro e sua presença de forma nativa e introduzida nos diferentes países.



Fonte: Adaptado de WFO, 2024; Tropical Forages, 2018; Letras ambientais, 2024.

Nesse contexto, matéria orgânica proveniente de leguminosas tendem a consistir em ricas fontes de macronutrientes, em especial de proteínas, além da alta suplementação de minerais em produção pecuária (Lebeloane *et al.*, 2024). Sob essa perspectiva, a forragem acaba por desempenhar alta relevância, sendo muitas das vezes o principal provedor alimentar, tendo como foco o baixo custo de produção e disponibilidade em pequenas propriedades rurais (Mpanza; Hassen; Akanmu, 2020). Entretanto, durante períodos cujo índice pluviométrico apresenta-se baixo, a quantidade produzida torna-se inviável, estimulando o avanço nos estudos de plantas forrageiras nativas (Neto; Oliveira; Valença, 2015).

Nesse contexto, a alta usabilidade da *S. scabra* como forragem é notável. Além de seu papel na fixação biológica de nitrogênio, a espécie mencionada apresenta características que a tornam particularmente valiosa para a produção pecuária. Suas propriedades nutricionais, incluindo elevados teores de proteína e minerais essenciais, contribuem significativamente para a dieta dos animais, promovendo um crescimento saudável e eficiente (Mpanza; Hassen, 2023). Sobre o valor nutricional da *S. scabra*, pode-se afirmar que:

As folhas de *S. scabra* apresentaram 2,84% de nitrogênio, 17,75% de proteína bruta e 0,20% de fósforo, enquanto nos caules esses percentuais são de 1,58%, 9,88% e 0,21%, respectivamente. Em feno a porcentagem de folhas varia de 42,25% a 48,56% e a produtividade, de 4.338 a 7.077kg/ha (Machado *et al.*, 1998 *apud* EMBRAPA, 2014).

Ademais, a *S. scabra* é uma planta adaptável a diversas condições climáticas e de solo, o que a torna uma opção viável durante períodos de seca e baixa disponibilidade hídrica. Essa adaptabilidade é crucial para pequenas propriedades rurais que enfrentam desafios relacionados à variação sazonal das chuvas. A capacidade da *S. scabra* de prosperar em ambientes adversos não só assegura uma fonte contínua de alimentação para o gado, mas também contribui para a sustentabilidade e resiliência das práticas agropecuárias (Cameron; Chakraborty, 2004; Marques *et al.*, 2018a).

Levantamentos recentes têm explorado a genética e a biologia da *S. scabra*, visando melhorar ainda mais seu uso em sistemas agrícolas, indicando que a biodiversidade genética desta espécie pode ser aproveitada para desenvolver cultivares com características específicas, tais como resistência a pragas e doenças, maior produtividade e melhor adaptação a condições climáticas adversas (Ferreira-Neto *et al.*, 2022; Chandra, 2013; Liu; Musial, 1997).

2.3 MECANISMOS DE RESPOSTAS VEGETAIS FRENTE A ESTRESSES ABIÓTICOS

Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram uma ampla variedade de mecanismos adaptativos para sobreviver em ambientes que apresentam fatores de estresse ambiental, tanto bióticos quanto abióticos, os quais podem representar desafios significativos à produção de cultivares de valor econômico (Haider *et al.*, 2021; Zhang, Huiming *et al.*, 2022). Desse modo, o estresse abiótico inclui não apenas variações extremas de temperatura, escassez de água, salinidade do solo e poluição, mas também outros desafios, como alta radiação solar, deficiências nutricionais e tensões anaeróbicas (anóxia e hipóxia), resfriamento e congelamento (Areche *et al.*, 2023; Mota-Ituarte *et al.*, 2023; Godoy *et al.*, 2021). Como resultado de tais tensões, ocorrem alterações no clima que levam a variações no rendimento e na produtividade das culturas (Bartusek; Kornhuber; Ting, 2022; Weilnhammer *et al.*, 2021).

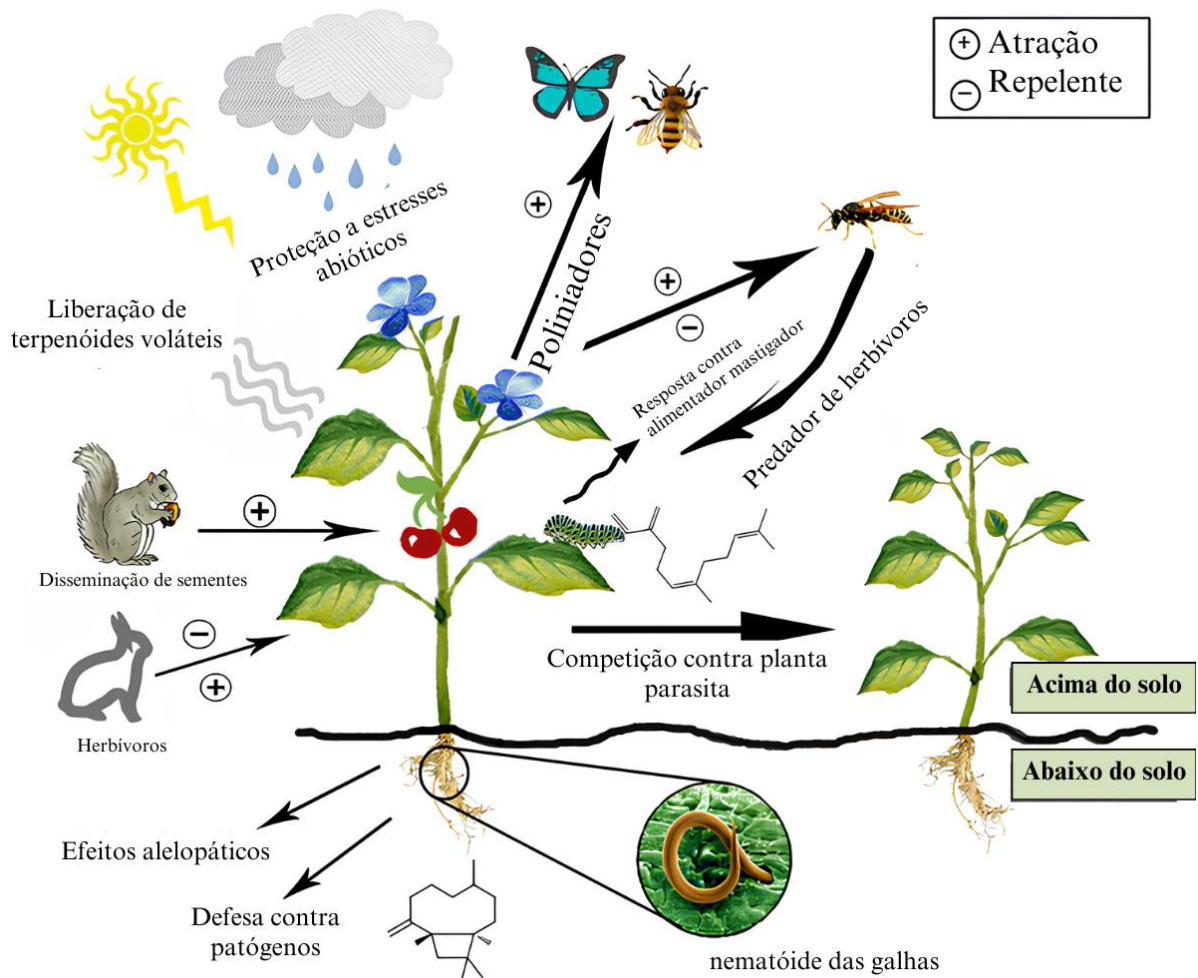
Por apresentarem hábitos sésseis, as plantas desenvolvem uma miríade de mecanismos adaptativos que abrangem desde ajustes bioquímicos e fisiológicos até modificações moleculares (Rajappa *et al.*, 2024; Godoy *et al.*, 2021; Mukarram *et al.*, 2021a). Esses mecanismos visam responder eficientemente condições estressantes e restaurar o equilíbrio metabólico, reduzindo as perdas hídricas, nutricionais e energéticas decorrentes do estresse ambiental, preservando recursos fundamentais para o crescimento e reprodução vegetal (Mukarram *et al.*, 2021b). Além disso, vias de sinalização complexas, incluindo mediadas por hormônios vegetais como o ácido abscísico (ABA) e o ácido salicílico (AS), coordenam respostas adaptativas a nível celular e sistêmico (Baroi *et al.*, 2024).

Dentre os potenciais estresses abióticos, a desidratação assume particular relevância, configurando-se como um dos fatores ambientais mais severos que afetam negativamente o crescimento das plantas e a produção agrícola (Hernández; Andrade; Barrios, 2024; Urano *et al.*, 2017). Uma vez submetidas à desidratação, dependendo da duração e da intensidade do déficit hídrico, as plantas adaptam-se aumentando a absorção de água e reduzindo sua perda (Li *et al.*, 2022). Essa maior absorção é alcançada por meio da modificação da arquitetura do sistema radicular, bem como pelo aumento da concentração de solutos, a fim de reduzir o potencial osmótico. Além disso, os estômatos são fechados, o crescimento dos brotos é inibido e a senescência das folhas é acelerada (Cruz *et al.*, 2023).

2.3.1 Família gênica TPS e seu papel na defesa vegetal frente a diferentes estresses ecológicos

Nesse contexto, tipificada por seu papel no desenvolvimento e crescimento das plantas, bem como na atração de potenciais polinizadores e na mediação de diversas respostas a estresses bióticos e abióticos, as terpeno sintase (TPS) constituem uma família gênica crucial em plantas, responsáveis pela biossíntese de terpenoides (Oliveira *et al.*, 2022). Esses, por sua vez, consistem em uma das classes mais diversas e abundantes de compostos naturais, desempenhando papéis fundamentais na ecologia, defesa e fisiologia das plantas (Gershenzon; Dudareva, 2007; Jiang *et al.*, 2024) (Figura 4).

Figura 4. Terpenoides e seus homólogos atuando para a defesa das plantas, auxiliando na modulação da resposta vegetal frente ao estresse biótico, como ataques de insetos e infecções por doenças.



Fonte: Adaptado de Abbas *et al.*, (2017)

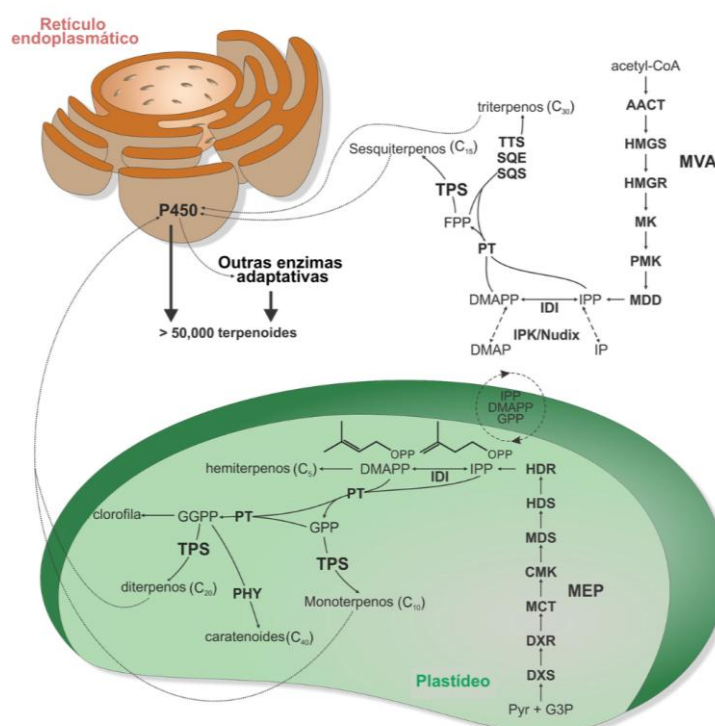
Dividida em duas vias, a formação da biossíntese de terpeno ocorre através do ácido mevalônico (MVA) e do 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP), situado no citosol, peroxissomos e plastídios, respectivamente. As vias MVA e MEP têm como finalidade a

formação de blocos isoméricos de construção de cinco carbonos, conhecidos como isoprenos: o isopentenil pirofosfato (IPP) e o dimetilalil pirofosfato (DMAPP). De modo que, a posteriori, os blocos isoméricos poderão ser catalisados a fim de originar a formação de prenilsintases (PSs) e terpeno sintases (TPSs) (Zhan; Qian; Mao, 2022). Como afirma Bocan *et al.*, (2020):

Subsequente condensação de IPP e DMAPP através da ação da isoprenil difosfato sintase (IDS - um tipo de preniltransferase (PT)) produz isoprenil difosfato/pirofosfato acíclico e aquiral (ID, C5n) intermediários incluindo geranyl pirofosfato (GPP, C10), farnesil pirofosfato (FPP, C15) e pirofosfato de geranylgeranyl (GGPP, C20), que são considerados terpenóides universais precursores.

Originados principalmente por pirofosfato de geranylgeranila (GGPP), geranyl pirofosfato (GPP) e farnesil pirofosfato (FPP), os terpenoides possuem esses compostos como seus principais precursores. A geranylgeranyl pirofosfato sintase (GPP sintase ou GPS), um precursor essencial na biossíntese de monoterpênos, atua na produção de geranylgeranyl pirofosfato (GPP) (Li *et al.*, 2023). A GPS pode existir na forma de um heterodímero, composto por uma subunidade pequena e uma subunidade grande, ou como um homodímero, formado por duas subunidades idênticas (Gao *et al.*, 2023). O farnesil pirofosfato (FPP), produzido pela condensação de uma molécula de dimetilalil pirofosfato (DMAPP) e duas moléculas de isopentenil pirofosfato (IPP), serve como precursor para a síntese de esteróis, sesquiterpenos e triterpenos. Sob a ação da geranylgeranyl pirofosfato sintase (GGPS), três moléculas de IPP e uma molécula de DMAPP são utilizadas na produção de GGPP (Qiu *et al.*, 2022). Notavelmente, a GGPS também pode atuar como a subunidade grande do heterodímero GPS (Figura 5) (Rudolf; Chang, 2020).

Figura 5. Derivação dos precursores, isopentenil pirofosfato (IPP) e dimetilalil pirofosfato (DMAPP), formados pelas vias ácido mevalônico (MVA) e 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP). A condensação desses precursores gerando geranyl difosfato [GPP (C₁₀)], farnesil difosfato [FPP (C₁₅)] e GGPP (C₂₀), que são convertidos em monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos por terpene sintases (TPS). Acetoacetil-CoA tiolase (AACT); 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol quinase (CMK); 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato redutase (DXR); 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato sintase (DXS); (E)-4-hidroxi-3-metil-but-2-enil difosfato redutase (HDR); (E)-4-hidroxi-3-metil-but-2-enil difosfato sintase (HDS); 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMGR); HMGS, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintase; isopentenil difosfato isomerase (IDI); MEP citidiltransferase (MCT); mevalonato-5-difosfato descarboxilase (MDD); 2-C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato sintase (MDS); mevalonato quinase (MK); monooxigenase dependente do citocromo P450 (P450); fitoeno sintase (PHY); fosfomevalonato quinase (PMK); prenil transferase; SCS, esqualeno sintase (PT); esqualeno epoxidase; TPS, terpene sintase (SQE); triterpeno sintase (TTS).



Fonte: Karunanithi; Zerbe (2019).

Divididas em duas classes conforme as disposições de suas seqüências, domínio catalítico e mecanismo de reação, as TPS tipo I possuem um grupo difosfato removido. Dessa forma, deixando um carbocátion na região terpeno. Além disso, um domínio conservado DDXD e NSE/DTE próximo à região C-terminal, sendo caracterizadas por desempenharem papéis importantes na ionização dependente de metal de substratos de prenildifosfato (Chen *et al.*, 2024). Por outro lado, nas do tipo II, um carbocátion terciário é formado através da protonação de um grupo funcional alceno ou epóxido, essas enzimas apresentam um motivo DXDD próximo à região N-terminal, sendo responsáveis por catalisar a formação de difosfato de copalil (CPP) por meio da ciclização de GGPP induzida por protonação (Christianson, 2017; Yan *et al.*, 2022).

Em plantas, a classe das terpeno-sintases (TPS) pode ser filogeneticamente dividida em sete subfamílias gênicas. Dentre essas, as TPS do Tipo I incluem as subfamílias TPS-a, que é específica para diterpenos; TPS-b, associada principalmente a monoterpenos; TPS-d, em coníferas, produzindo metabólitos especializados diterpenóides, sesqui e mono, sendo normalmente encontrados em emissões voláteis e secreções de oleorresina, que são comumente encontradas em gimnospermas (Jiang *et al.*, 2019). Em contraste, as subfamílias TPS-e/f e TPS-g, com a prevalência de diterpenoides do tipo labdanoe e produtos acíclicos, respectivamente (Otomo *et al.*, 2004). Por outro lado, TPS-h são mais especificamente associados à espécie *Selaginella moellendorffi*, e o Tipo II é representado exclusivamente pela subfamília TPS-c (Chen *et al.*, 2011). A distribuição dessas subfamílias e a especificidade enzimática atua na adaptação e evolução das plantas, permitindo a produção de um vasto repertório de compostos voláteis e de defesa (Hansen *et al.*, 2016).

Em termos de estrutura, as TPS apresentam um núcleo conservado, geralmente composto por dois domínios principais: o domínio N-terminal, que é típico de plantas e necessário para a ligação de substrato, e o domínio C-terminal, que contém o sítio ativo da enzima (Silva *et al.*, 2022). A variedade de produtos gerados pelas TPS é resultado da capacidade dessas enzimas de realizar múltiplas ciclizações e rearranjos moleculares, muitas vezes com alta especificidade enzimática para diferentes precursores (Chen *et al.*, 2024).

Utilizando-se como mecanismo de defesa perante o meio, as plantas acometidas podem ativar síntese de um conjunto de proteínas, de modo que, uma vez submetidas a potenciais estresses, sejam abióticos ou bióticos, tais organismos produzam miríades de metabólitos terpenoides para adaptar-se às condições impostas (Pichersky; Raguso, 2018; He *et al.*, 2023). Ademais, a expressão de determinados TPSs pode ser induzida quando o organismo recebe estímulos de variações em seu habitat, a exemplo das diferenças nos padrões de luminosidade, de temperatura e escassez hídrica (Arango-Velez *et al.*, 2011; Palai *et al.*, 2023; Tingey *et al.*, 1980; Zhang, Xinhua *et al.*, 2019).

Ainda que a escassez de levantamento referente a família terpeno sintase seja um fato notório, as ações das TPS em condições de déficit hídrico tem sido um tópico de interesse crescente na pesquisa botânica e na fisiologia vegetal, devido ao papel fundamental que os terpenos desempenham na resposta das plantas ao estresse abiótico. Assim como, sob condições de déficit hídrico, estudos têm investigado a expressão de genes codificadores de terpeno sintases, levando a um aumento na produção de certos terpenoides (Ma *et al.*, 2024; Sun *et al.*, 2022; Zhang, Xinhua *et al.*, 2019).

2.4 ÔMICAS E SUA DISPONIBILIDADE INFORMACIONAL PARA *S. scabra*

Consolidando-se na década de 1990, as ciências ômicas tiveram seu início com o Projeto Genoma Humano, elaborado no *National Institute for Human Genome Research* (NHGRI), sendo desenvolvidos através de Eric D. Green, James D. Watson e Francis S. Collins, essa iniciativa internacional teve como objetivo mapear e sequenciar todo o DNA humano, representando um marco do século XX (Green; Watson; Collins, 2015; Rocha *et al.*, 2022).

Posto isso, as ciências ômicas, derivado da palavra inglesa “Omics”, qual subentende um conjunto informacional biológico, como genômica, proteômica, metabolômica e transcriptômica. Desse modo, essas disciplinas visam caracterizar e quantificar coletivamente conjuntos de moléculas biológicas, qual abrange sua estrutura, função e dinamismo (Dai; Shen, 2022). De forma que, o a genômica caracteriza-se ao analisar o genoma completo de uma determinada espécie; a transcriptômica a compreensão global dos transcritos; a proteômica, ênfase nas proteínas e a metabolômica estudando os metabólitos (Márquez-Godoy *et al.*, 2024).

Adentrando numa ontologia da interpenetração de “*S. scabra* e ômicas”, é notória a escassez de informações baseadas em Genômica e Transcriptômica para a referida espécie (Ferreira-Neto *et al.*, 2023). Essa lacuna é contornada por estratégias de citogenética, utilizando métodos como *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH) e *Genomic In Situ Hybridization* (GISH) (Marques *et al.*, 2018) ou por meio de marcadores moleculares, como os marcadores ISSRs (Costa *et al.*, 2019). Ademais, o genoma foi analisado, focando na comparação de seus genes codificadores de estruturas ribossomais (DNA ribossômico) entre diferentes espécies do gênero *Stylosanthes* Sw, utilizando uma abordagem evolutiva (Marques *et al.*, 2018).

Apesar de sua capacidade da *S. scabra* prosperar em ambientes desfavoráveis, é notório a escassez de levantamentos transcriptômicos de que visam compreender como sua genética é usada em condições de déficit hídrico (Ferreira-Neto *et al.*, 2022). Embora trabalhos anteriores puderam analisar a família terpeno sintase em diferentes grupos botânicos (Aubourg; Lecharny; Bohlmann, 2002; Falara *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2022a), assim como na família Fabaceae (Liu *et al.*, 2014), há lacunas significativas no entendimento dos TPS sob uma abordagem multiômica. Dessa forma, a integração de dados transcriptômicos, metabolômicos e genômicos torna-se essencial para elucidar os mecanismos de regulação e a diversidade funcional desses compostos, que desempenham papéis fundamentais na defesa da planta, bem como na interação com o ambiente e no potencial biotecnológico (Jiang *et al.*, 2024).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANÁLISES DE GENÔMICA ESTRUTURAL

3.1.1 Mineração e identificação de genes TPS em *Stylosanthes scabra*

Para a obtenção das sequências proteicas, foi realizado uma busca BLASTP local, qual as sequências proteicas previamente elucidadas de TPS, presente no genoma de *Arabidopsis thaliana* e *Populus trichocarpa* foram utilizadas como sonda para obtenção das sequências proteicas de TPS presente no proteoma putativo da *S. scabra*. Em seguida, foi utilizando o Modelo Oculto de Markov (HMM) para identificação dos domínios conservados identificados por seus modelos Pfam: PF03936 (C-terminal) e PF01397 (N-terminal) qual foram obtidos por meio da triagem da sequência do genoma através da ferramenta HMMER3. Posteriormente, as sequências foram submetidas ao NCBI-CDD e Pfam para identificar e confirmar a presença dos domínios TPS e o seu quantitativo.

3.1.2 Características dos genes TPS

As características dos genes TPS de *S. scabra* foram determinadas via Genestats script (<https://github.com/darencard/GenomeAnnotation>, acessado em 14 de abril de 2024). Os seguintes parâmetros foram examinados: 1. Comprimento da sequência transcrita; 2. Número de éxons; 3. Comprimento total da sequência do éxon; 4. Número de íntrons; 5. Comprimento total da sequência do íntrons; 6. Número de blocos CDS; 7. Comprimento total da sequência CDS; 8. Número de sequências 5'UTR; 9. Comprimento total da sequência 5'UTR; 10. Número de sequências UTR 3'; 11. Comprimento total da sequência 3'UTR, determinadas usando o arquivo GFF3 (Chen *et al.* 2020).

3.1.3 Propriedades proteicas e localização subcelular

O peso molecular (MW), ponto isoelétrico (pI) e tamanho das sequências (aa) para todas as proteínas TPSs codificadas no genoma de *S. scabra* foram previstas usando a ferramenta online EMBOSS Pepstats (https://www.ebi.ac.uk/seqstats/emboss_pepstats, acessado em 19 de maio de 2024). As localizações subcelulares e a *Grand Average of Hydropathy* (GRAVY) dessas proteínas foram determinadas usando-se a ferramenta online DeepLoc-2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLoc-2.0/>, acessado em 25 de maio de 2024) e GRAVY Calculator (<https://www.gravy-calculator.de>, acessado em 25 de maio de 2024), respectivamente.

3.1.4 Estrutura genética, identificação de motivos conservados e análise Filogenética

Alinhamentos múltiplos entre as sequências de proteína TPS de *S. scabra*, *A. thaliana*, e *Populus trichocarpa* foi realizado com o auxílio do programa MAFFT v.6 (Kato; Toh, 2010) e editadas no MEGA v.7 (KUMAR; Stecher; Tamura, 2016). O método Neighbour-joining (NJ) foi usado para construir a árvore filogenética com 1000 replicações de bootstrap e outros parâmetros definidos como valores padrão. Os motivos conservados das proteínas TPS foram analisados usando o programa MEME ([//www.meme-suite.org](http://www.meme-suite.org), acessado em 18 de julho de 2024). O número máximo de motivos previstos nos parâmetros foi definido como 10 e os demais parâmetros foram definidos como padrão. O mapa da estrutura genética e dos motivos conservados foram exibidos utilizando o software TBtools (Chen *et al.*, 2020)

3.1.5 Análise de termos GO e vias KEGG

Para anotação funcional GO e KEGG das proteínas SscTPS, foi utilizada a ferramenta para previsão do elemento PANNZER2 (<http://ekhidna2.biocenter.helsinki.fi/sanspanz/>, 20 de agosto de 2024) a qual adota o algoritmo estatístico para obter as funções ou categorias super-representadas na lista de input. Posteriormente, os genes envolvidos no foram mapeados para as categorias funcionais KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) foram analisados utilizando BlastKOALA (<https://www.kegg.jp/blastkoala/>, 10 setembro de 2024).

3.2 ANÁLISE TRANSCRITÔMICA

3.2.1 Mineração e identificação de genes SscTPS em transcriptoma de *S.scabra*

Para a obtenção das sequências transcritas, foi realizado uma busca BLASTP local, qual as sequências proteicas previamente elucidadas de TPS, presente no proteoma putativo de *S.scabra*, foram utilizadas como sonda no transcriptoma radicular traduzido, submetido ao déficit hídrico. Além disso, duas sondas proteicas dos domínios específicos referidos a família terpeno sintase foram utilizados, PF01397 e PF03936, qual representam a porção N-terminal e C-terminal de TPS do banco de dados Pfam. Estas foram obtidas por meio da triagem da sequência do genoma através da ferramenta HMMER3 e posteriormente, submetidas ao NCBI-CDD e Pfam para identificar e confirmar a presença dos domínios TPS e o seu respectivos quantitativos.

3.2.2 Análise de expressão diferencial *in silico*

Dados referentes ao transcriptoma radicular de *S. scabra*, submetidas a privação de água no tempo de 24h, foram sequenciados tendo como base a tecnologia de RNA-Seq (Illumina HiSeq2500), de modo que, os genes presentes no transcriptoma puderam ser analisados e utilizados para a construção de bibliotecas de RNAseq (Ferreira-Neto *et al.*, 2022), disponibilizados pelo grupo do Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal (LGBV). A construção referente a expressão *in silico* foi baseada na análise dos valores de *Fold Change* (FC) dos transcritos de cada tratamento a partir das análises via EdgeR (Robinson; McCarthy; Smyth, 2010). Os transcritos com $1 > \text{Log}_2\text{FC} > -1$, $p < 0,05$ e $\text{FDR} < 0,05$ foram considerados diferencialmente expressos. Posteriormente, foram submetidos ao software CLUSTER 3.0 (Read; Vance; Blueprints *et al.*, 2001) como objetivo o agrupamento e montagem dos clusters das sequências, os resultados foram apresentados da expressão gerado pelo programa TreeView (Saldanha, 2004), dispostos em heatmap.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 IDENTIFICAÇÃO DOS GENES TPS NO GENOMA DA *S. scabra*

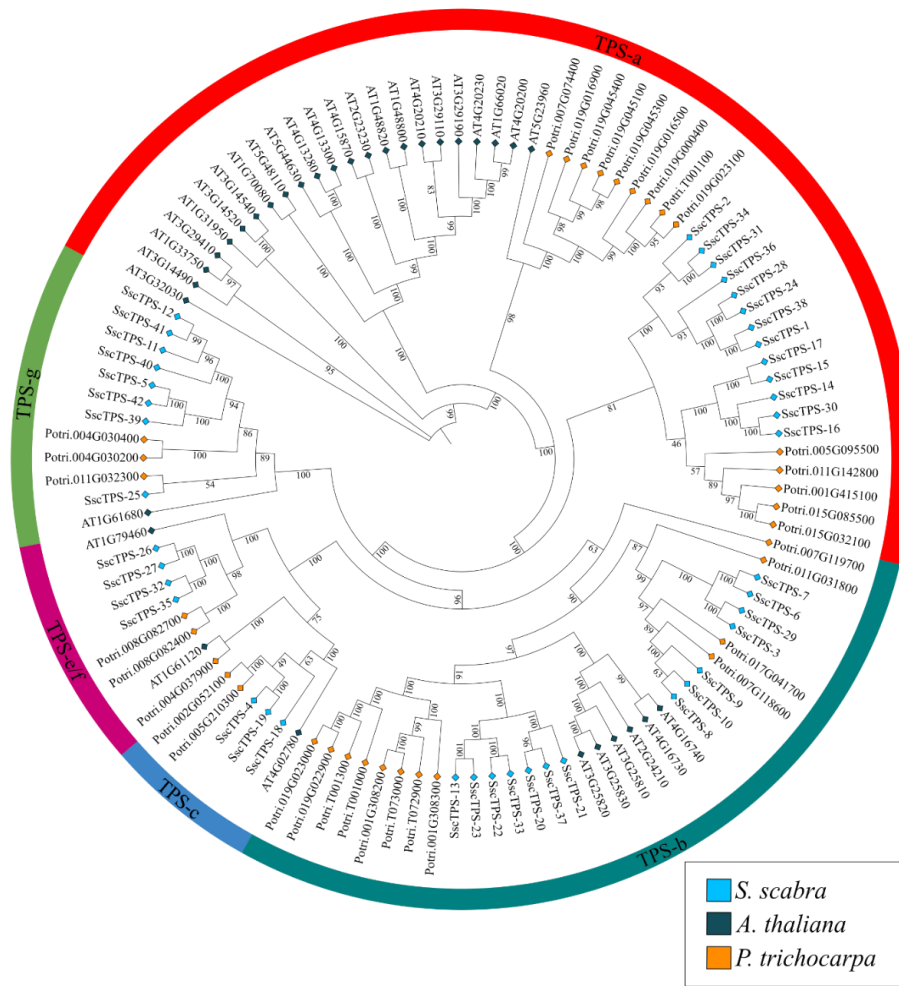
Ao analisar o proteoma putativo completo de *S. scabra* por meio do algoritmo de *Hidden Markov Model* (HMM) juntamente ao BLASTp, buscando o domínio caracterizador da família gênica, a sonda proteica retornou um total de 96 sequências candidatas. Com a finalidade de eliminar possíveis redundâncias, as sequências foram submetidas a reclusterização, retornado 88 possíveis TPSs. Após essa etapa, as sequências receberam o prefixo SscTPS. Ademais, as que apresentaram domínios incompletos, assim como as que não puderam ser alinhadas devido à presença de extensas regiões de aminoácidos, foram excluídas das análises posteriores.

Dessa forma, 42 genes putativos, candidatos a TPS, foram classificados e renomeados de SscTPS-1 a SscTPS-42, sendo esse um dos resultados mais significativos em número de terpeno sintase quando comparadas a trabalhos anteriormente realizados na família Fabaceae [*Glycine max* (n=23) (Liu *et al.*, 2014)], Brassicaceae [*A. thaliana* (n=32) (Aubourg; Lecharny; Bohlmann, 2002)], Solanaceae [*Solanum lycopersicum* (n=29) (Falara *et al.*, 2011)] e Apiaceae [*Apium graveolens* (n=39) (Li *et al.*, 2022a)]. A respectivas divergências no número de genes codificadores para TPSs é esperado, sugerindo os papéis significativos associados à resposta a estresses (Lopes *et al.*, 2024). Essa plasticidade adaptativa possivelmente conferiu a essas espécies diferentes estratégias combinadas de resposta, permitindo sua adaptação a ambientes adversos (Zhou; Pichersky *et al.*, 2020; Chagyan *et al.*, 2023).

Com base na distribuição filogenética observada dos TPSs, os membros foram organizados em cinco grupos, correspondentes a cada subfamília de TPS-a, TPS-b, TPS-c, TPS-e/f e TPS-g os quais foram comparadas com sequências de TPS de outras espécies vegetais, que variaram de 3 a 14 representantes por cada subfamília. Entre as 42 proteínas TPS, 39 puderam ser classificadas com elevada similaridade enquanto TPS tipo I, as SscTPS- 4, SscTPS-18 e SscTPS-19 agruparam-se no mesmo ramo que AT4G02780, quais foram classificadas como TPS tipo II. Dessa forma, os resultados sugeriram possíveis atribuições funcionais as subfamílias agrupadas, em razão de que esses já possuem funções previamente definidas (Figura 06).

A distribuição das SscTPSs entre os grupos apresentou padrões assimétricos, com destaque para o grupo TPS-e/f, que contou com apenas quatro representantes, resultado esse inferior ao encontrado em outras espécies, como *Apium graveolens* (n=6) (Li *et al.*, 2022a), porém superior quando comparado a *Daucus carota* (n=3) (Song *et al.*, 2020) e *Malus domestica* (n=1) (Nieuwenhuizen *et al.*, 2013).

Figura 6. Árvore filogenética de 42 SscTPSs, AtTPSs e 53 PotriTPSs. A árvore foi construída pelo método *Neighbor Joining*. Vermelho, verde-escuro, azul-celeste, rosa e verde-claro representam as subfamílias do TPS-a, TPS-b, TPS-c, TPS-e/f e TPS-g respectivamente.



Fonte: Autor (2025)

Por sua vez, o grupo TPS-b foi o mais numeroso, seguido da subfamília TPS-a, com a presença de 14 e 13 genes, respectivamente. Dessas TPS-a e TPS-b apresentaram maior expansão quando comparadas as demais subfamílias, padrões semelhantes foram consistentes em várias espécies, incluindo *Cannabis sativa* (Allen *et al.*, 2019), *Dendrobium officinale* (Zhao *et al.*, 2020), *P. trichocarpa* (Irmisch *et al.*, 2014), *Salvia splendens* (Chen, Zequn *et al.*, 2021) e *Vanilla planifolia* (Huang *et al.*, 2021), padrões semelhantes também puderam ser observados em representante da família Fabaceae, a exemplo da *Glycine max* (Liu *et al.*, 2014), entretanto divergem aos relatados em *Medicago truncatula* (Parker *et al.*, 2024). Ademais, o grupo TPS-g apresentou oito membros, corroborando com a elevada variação de representantes dessa subfamília em diferentes espécies, conforme os dados disponíveis na literatura e evidenciados na Tabela 01.

Tabela 1 - Tabela comparativa da família terpeno sintase em diferentes espécies

Espécies	Subfamílias Terpeno sintase (TPS)					Total	Referência
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>e/f</i>	<i>g</i>		
<i>Stylosanthes scabra</i>	13	14	3	4	8	42	Trabalho atual
<i>Arabidopsis thaliana</i>	23	6	1	2	1	33	Aubourg <i>et al.</i> , (2002)
<i>Cannabis sativa</i>	11	16	4	0	0	31	Allen <i>et al.</i> , (2019)
<i>Daucus carota</i>	1	5	3	3	4	16	Keilwagen <i>et al.</i> , (2017)
<i>Glycine max</i>	6	7	3	3	4	23	Liu <i>et al.</i> , (2014)
<i>Mentha longifolia</i>	13	22	5	19	4	63	Chen <i>et al.</i> , (2021)
<i>Populus trichocarpa</i>	16	14	2	3	3	38	Irmisch <i>et al.</i> , (2014)
<i>Vallina planifolia</i>	7	12	0	4	7	30	Huang <i>et al.</i> , (2021)

Entres as subfamílias identificadas, os clados TPS-a, TPS-b e TPS-c são comumente encontrados em angiospermas, membros desse clado geralmente são associados a biossíntese de sesqui, mono e diterpenos, respectivamente (Fernández *et al.*, 2021). Quais apresentam funções atreladas ao desenvolvimento, sinalização e crescimento de plantas, desempenhando papel ecológico na interação entre a planta e estresses ambientais (Zhou *et al.*, 2020). Além disso, o clado TPS-a também pode estar relacionado à produção de monoterpenos acíclicos, como limoneno, linalol e mirceno (Lopes *et al.*, 2024). Os demais clados desempenham funções fundamentais em interações ecológicas (Chen *et al.*, 2011), sendo frequentemente envolvidos em respostas adaptativas quando observadas em condições de seca (Aqeel *et al.*, 2023; Fernández de Simón *et al.*, 2021; Lopes *et al.*, 2024).

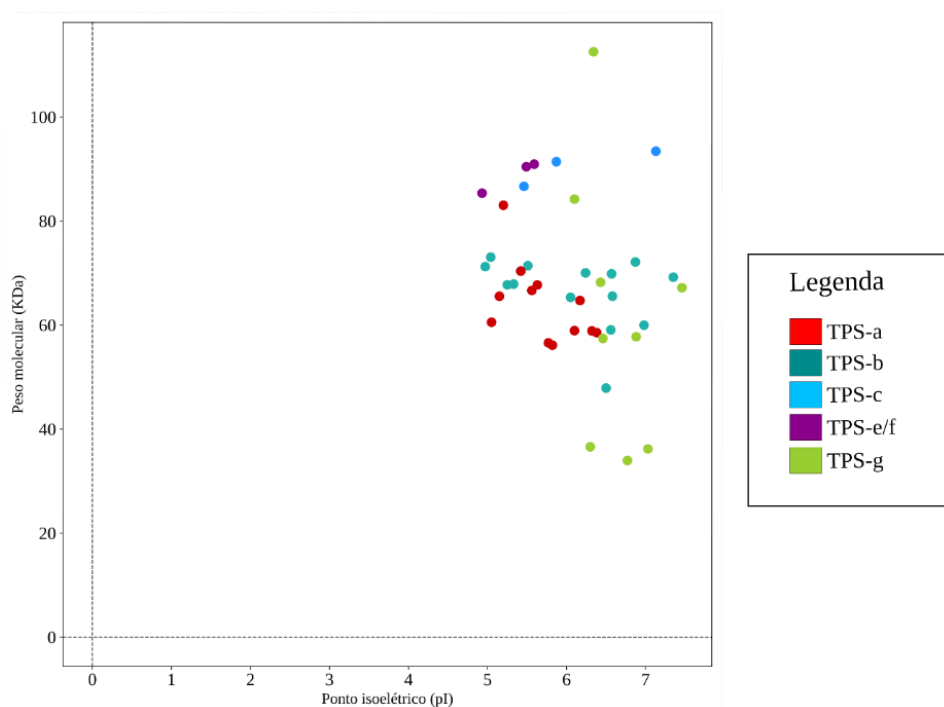
4.2 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA PRESENTES EM GENES SscTPS

A análise físico-química dos SscTPS revelou divergência significativas no peso molecular (kDa), variando de 33,9 (kDa) (SscTPS-42) a 112,5 (kDa) (SscTPS-5) e no número de aminoácidos (aa), que foi de 295 (SscTPS-42) a 976 (SscTPS-5) (aa). Resultados semelhantes puderam ser observados em análises anteriores, onde o número de aminoácidos são equiparáveis aos observados em *A. thaliana* (547 a 884 aa) (Aubourg *et al.*, 2002) e *G. max* (260 a 831 aa) (Liu *et al.*, 2014). Nesse contexto, conforme Alquézer *et al.*, (2017), o número presente na sequência de aminoácidos das terpeno sintases pode estar associado à sua função biossintética, de forma que, as sesquiterpeno sintases, cuja biossíntese ocorre majoritariamente no citosol, não apresentam sinais de direcionamento plastidial e são, em geral, 50 a 70

aminoácidos mais curtas do que as monoterpenos. Por sua vez, monoterpeno sintases apresentam um tamanho médio que varia entre 600 e 650 aminoácidos e possuem um sinal de trânsito plastidial, alocado em sua região N-terminal, em conformidade com o fato de que a biossíntese de monoterpenos ocorre nos plastídios.

Além disso, o ponto isoelétrico teórico (pI) variou de 4,47 (SscTPS-37), indicando uma tendência mais ácida, a 7,46 (SscTPS-12), mais próximo da neutralidade. A análise de cluster relacionou o peso molecular (kDa) e o ponto isoelétrico (pI) de cada um dos seus respectivos representantes (Figura 7). Desse modo, padrões relacionados ao peso molecular também puderam ser identificados, qual observou-se que as classes TPS-c e TPS-e/f apresentaram padrões de agrupamento, ambas variando entre 80 a 100 kDa. De forma semelhante, as classes TPS-b e TPS-a se agruparam dentro do intervalo de 50 a 80 kDa. Assim como membros da subfamília TPS-a e TPS-e/f, quando equiparadas as demais famílias, apresentaram caráter mais ácido, uma vez que a variação do ponto isoelétrico alternou entre 5 e 6. Por conseguinte, as subfamílias TPS-b e TPS-c, exibiram as maiores variações de pI, qual oscilou entre 5 e 7,5. Por fim, os representantes TPS-g, alternou entre 6 a 7 de pI, o que pode sugerir características mais próximas a neutralidade nessa família. Além disso, 90,5% dos SscTPS apresentaram pI inferiores a 7, indicando que a sua maioria podem ser proteínas ácidas.

Figura 7. Mapa de distribuição bimodal da massa molecular (kDa) e do ponto isoelétrico (pI) das subfamílias TPSs. O eixo X indica o ponto isoelétrico e o eixo Y representa a massa molecular.



Fonte: Autor (2025)

Os resultados da predição de hidropaticidade, baseados nos valores de GRAVY, demonstraram que todos os valores foram negativos, indicando que os SscTPS funcionam predominantemente como proteínas hidrofílicas (Tabela 2). Isso sugere uma provável interação dessas proteínas com ambientes aquosos, o que pode estar relacionado à sua função biológica (Li *et al.*, 2022b). A previsão da localização da família terpeno sintase revela uma distribuição diversificada. Estudos anteriores sugerem que as TPSs podem estar presentes em diferentes compartimentos subcelulares, como membrana plasmática, mitocôndria, extracelular, núcleo e citoplasma e cloroplasto (Falara *et al.*, 2011; Wang, Wu *et al.*, 2023). No presente estudo, as SscTPS previstas indicaram que a grande parte das TPS presentes no genoma de *S. scabra* possuem localização citosólica (35,7%), nuclear (7,1%) e plastidial (57,1%) (Tabela 2).

A diversidade das terpeno sintases (TPS) presentes nos diferentes compartimentos subcelulares é amplamente corroborada, uma vez que a biossíntese de terpenoides ocorre predominantemente no citosol, favorecendo a produção de uma ampla variedade de sesqui- e monoterpênos (Zhou; Pichersky *et al.*, 2020). Além disso, essa biossíntese também pode ser observada nos plastídios, onde é responsável pela localização pela formação diversificada de mono- e diterpenos (Canal *et al.*, 2023).

Tabela 2 – Número de éxons (N.e), região codificante (CDS), tamanho da proteína (aa), ponto isoelétrico (pI), massa molecular (MW), localização subcelular das SscTPSs e índice de hidropaticidade média (GRAVY), de *S. scabra*.

Gene nomeado	Gene ID	N.e	CDS	Propriedades proteicas					
				comp. (aa)	pI	PM (KDa)	Loc. Sub.	GRAVY	Sub. grup
SscTPS-1	PIB30_003461-T3	7	1707	568	5,1556	66,25	Plastídio	-0,284	TPS-a
SscTPS-2	PIB30_003463-T1	7	1464	487	5,7705	56,58	Citoplasma	-0,295	TPS-a
SscTPS-3	PIB30_004752-T1	5	1785	594	5,2479	67,74	Plastídio	-0,332	TPS-b
SscTPS-4	PIB30_007839-T1	7	1821	789	5,8725	91,4	Plastídio	-0,379	TPS-c
SscTPS-5	PIB30_010256-T1	11	2931	976	6,3398	112,54	Citoplasma	-0,285	TPS-g
SscTPS-6	PIB30_014003-T1	7	1797	598	7,3483	69,21	Plastídio	-0,387	TPS-b
SscTPS-7	PIB30_014004-T1	7	1890	629	6,8653	72,13	Plastídio	-0,348	TPS-b
SscTPS-8	PIB30_014340-T1	8	1524	507	6,3763	58,55	Plastídio	-0,298	TPS-b
SscTPS-9	PIB30_014340-T2	10	1569	522	6,9845	59,98	Plastídio	-0,276	TPS-b

Gene nomeado	Gene ID	N.e	CDS	Propriedades proteicas					
				comp. (aa)	pI	PM (KDa)	Loc. Sub.	GRA VY	Sub. grup
SscTPS-10	PIB30_014340-T3	15	2370	412	6,5043	47,88	Plastídio	-0,214	TPS-b
SscTPS-11	PIB30_015156-T1	7	1239	497	6,8802	57,75	Citoplasma	-0,401	TPS-g
SscTPS-14	PIB30_022094-T1	7	1662	553	6,1686	64,72	Citoplasma	-0,309	TPS-a
SscTPS-15	PIB30_023665-T1	6	1509	502	6,099	58,93	Citoplasma	-0,375	TPS-a
SscTPS-16	PIB30_029038-T1	7	1710	569	5,5607	66,65	Citoplasma	-0,316	TPS-a
SscTPS-17	PIB30_031340-T1	6	1485	494	6,4594	57,43	Plastídio	-0,415	TPS-a
SscTPS-18	PIB30_031906-T1	6	1494	814	7,1252	93,42	Plastídio	-0,397	TPS-c
SscTPS-19	PIB30_031908-T1	15	2445	748	5,4596	86,66	Citoplasma	-0,374	TPS-c
SscTPS-20	PIB30_036784-T1	7	1866	621	5,0399	73,05	Plastídio	-0,438	TPS-b
SscTPS-21	PIB30_036788-T1	7	1818	605	5,5106	71,41	Plastídio	-0,438	TPS-b
SscTPS-22	PIB30_045002-T1	6	1497	498	6,3241	58,88	Citoplasma	-0,319	TPS-b
SscTPS-23	PIB30_045005-T1	7	1788	595	6,2386	70,03	Plastídio	-0,366	TPS-b
SscTPS-24	PIB30_046054-T1	7	1812	603	5,4229	70,37	Plastídio	-0,228	TPS-a
SscTPS-25	PIB30_046284-T1	7	1770	589	6,4267	68,23	Plastídio	-0,394	TPS-g
SscTPS-26	PIB30_047971-T2	13	2247	793	5,4888	90,44	Plastídio	-0,257	TPS-e/f
SscTPS-27	PIB30_047971-T3	14	2382	729	5,2015	83,03	Plastídio	-0,211	TPS-e/f
SscTPS-28	PIB30_049299-T2	6	1533	510	6,5592	59,07	Plastídio	-0,208	TPS-a
SscTPS-29	PIB30_050308-T1	5	1791	596	5,3307	67,87	Plastídio	-0,321	TPS-b
SscTPS-30	PIB30_058717-T1	7	1758	585	5,627	67,71	Núcleos	-0,211	TPS-a
SscTPS-31	PIB30_067180-T1	6	1458	485	5,8164	56,13	Citoplasma	-0,292	TPS-a
SscTPS-32	PIB30_070216-T1	13	2190	796	5,5892	90,93	Plastídio	-0,268	TPS-e/f
SscTPS-33	PIB30_071538-T1	7	1665	554	6,5791	65,55	Citoplasma	-0,399	TPS-b
SscTPS-34	PIB30_071737-T1	7	1704	567	5,1522	65,53	Citoplasma	-0,341	TPS-a
SscTPS-35	PIB30_074926-T1	14	2391	745	4,9335	85,35	Citoplasma	-0,277	TPS-e/f

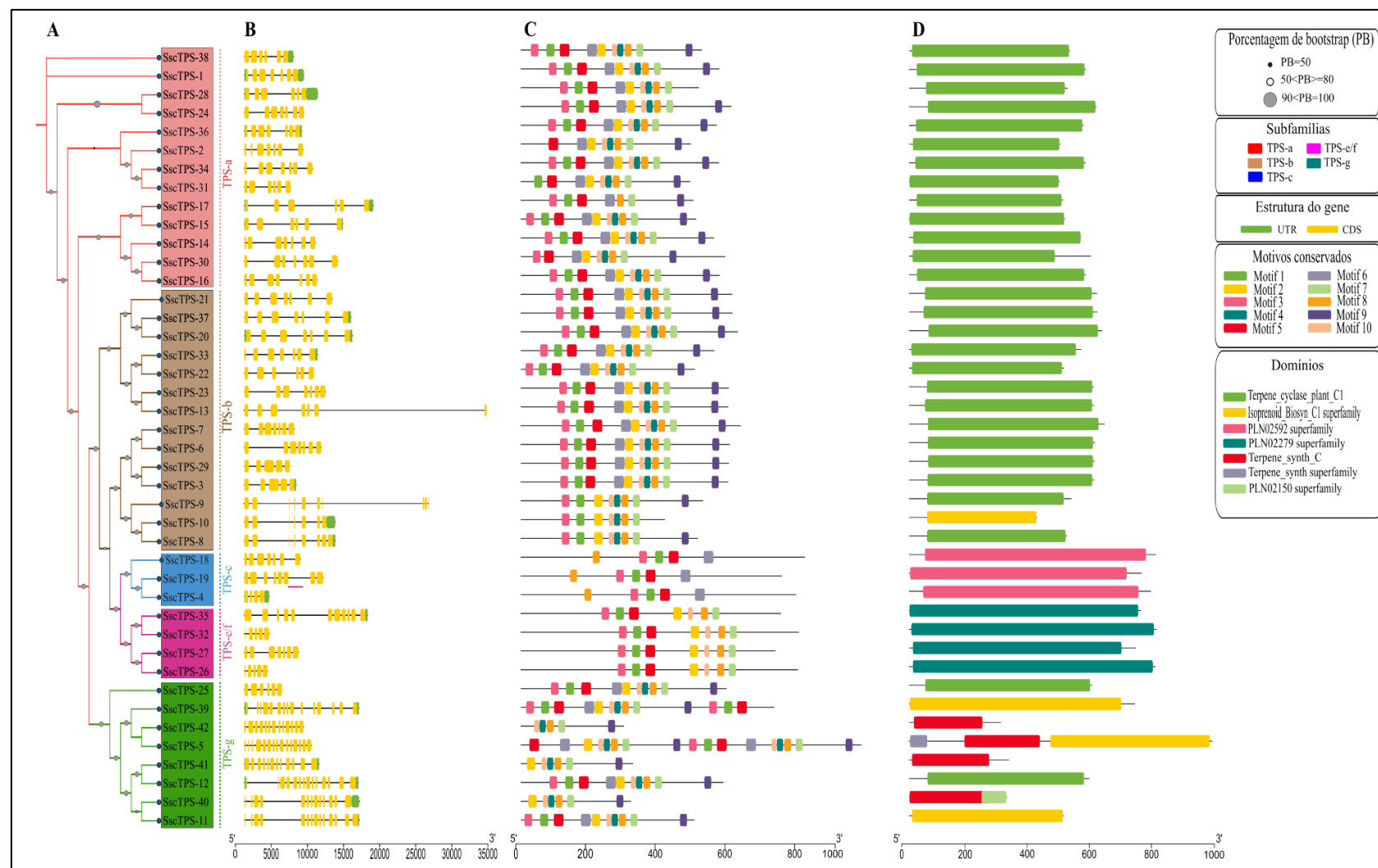
Gene nomeado	Gene ID	N. e	CDS	Propriedades proteicas					
				comp. (aa)	pI	PM (KDa)	Loc. Sub.	GRAVY	Sub. grup
SscTPS-36	PIB30_080987-T2	7	1686	561	6,0461	65,33	Plastídio	-0,375	TPS-a
SscTPS-37	PIB30_090248-T1	3	645	606	4,9692	71,23	Plastídio	-0,453	TPS-b
SscTPS-38	PIB30_092218-T1	12	2238	518	5,0455	60,54	Citoplasma	-0,235	TPS-a
SscTPS-39	PIB30_096896-T1	6	1557	726	6,1042	84,21	Núcleo	-0,325	TPS-g
SscTPS-40	PIB30_015157-T1	5	948	315	7,0332	36,19	Citoplasma	-0,264	TPS-g
SscTPS-41	PIB30_043508-T1	6	966	321	6,3016	36,6	Citoplasma	-0,188	TPS-g
SscTPS-42	PIB30_087586-T1	4	888	295	6,7699	33,96	Núcleo	-0,251	TPS-g

Fonte: Autor (2025)

4.3 ESTRUTURAS GENÉTICAS E DOMÍNIOS PROTEICOS CONSERVADOS DE SscTPS

Com o objetivo de compreender as características estruturais dos SscTPS, foram analisadas a organização éxons, íntrons e as sequências *upstream* e *downstream* dos genes presentes no genoma da *S. scabra*. A análise permitiu observar que 19 (45,2%) apresentaram estruturas semelhantes, ambos com 7 éxon e 6 íntrons. Oito genes SscTPS (19,04%) possuíram éxon e íntrons equivalente a 6 e 5, respectivamente. Os demais, cinco (11,9%) portaram éxons inferior a 5 e nove (21,4%) superior 8, ambos com variações da presença de íntrons (Apêndice A). No âmbito das subfamílias, membros representantes das classes TPS-c, TPS-g junto a classe TPS-e/f, apresentam estrutura gênica semelhante, com o número de éxons (6 a 14) e CDSs mais longos (888 pb) as subfamílias TPS-a e TPS-b demonstraram semelhanças na estrutura gênica, compartilhando resultados similares no número reduzido de éxons, variando de 3 a 10, com exceção da sequência SscTPS-10, pertencente à subfamília TPS-b, que o número de éxon foi de 15 (Tabela 02; figura 08b). Além disso, embora existam variações significativas na estrutura entre as diferentes subfamílias, raramente observadas entre os membros de uma mesma subfamília, as pertencentes aos clados TPS-a e TPS-b demonstraram elevada conservação, resultados semelhantes puderam ser observados por Zhang *et al.*, (2022) ao analisar o genoma de algodão (*Gossypium hirsutum*).

Figura 8. Relação filogenética, estrutura íntron/éxon e análise de motivos de SscTPSs. (A) Relações filogenéticas de SscTPSs; (B) Distribuição exon/íntron de SscTPSs; (B) Os motivos conservados de SscTPSs; (C) Motivos conservados de SscTPSs; (D) Domínio conservado.



Fonte: Autor (2025)

Entre os dez motivos proteicos conservados identificados, cada motivo continha proporcionalmente entre 37 a 42 aminoácidos (Apêndice B). Bem como a maioria das estruturas foram compartilhadas de forma semelhante a todos os representantes de suas respectivas subfamílias. A conservação de *motifs* é esperada uma vez que trabalhos anteriores apresentam elevado grau de conservação, principalmente quando observada em plantas (Degenhardt; Köllner; Gershenzon, 2009).

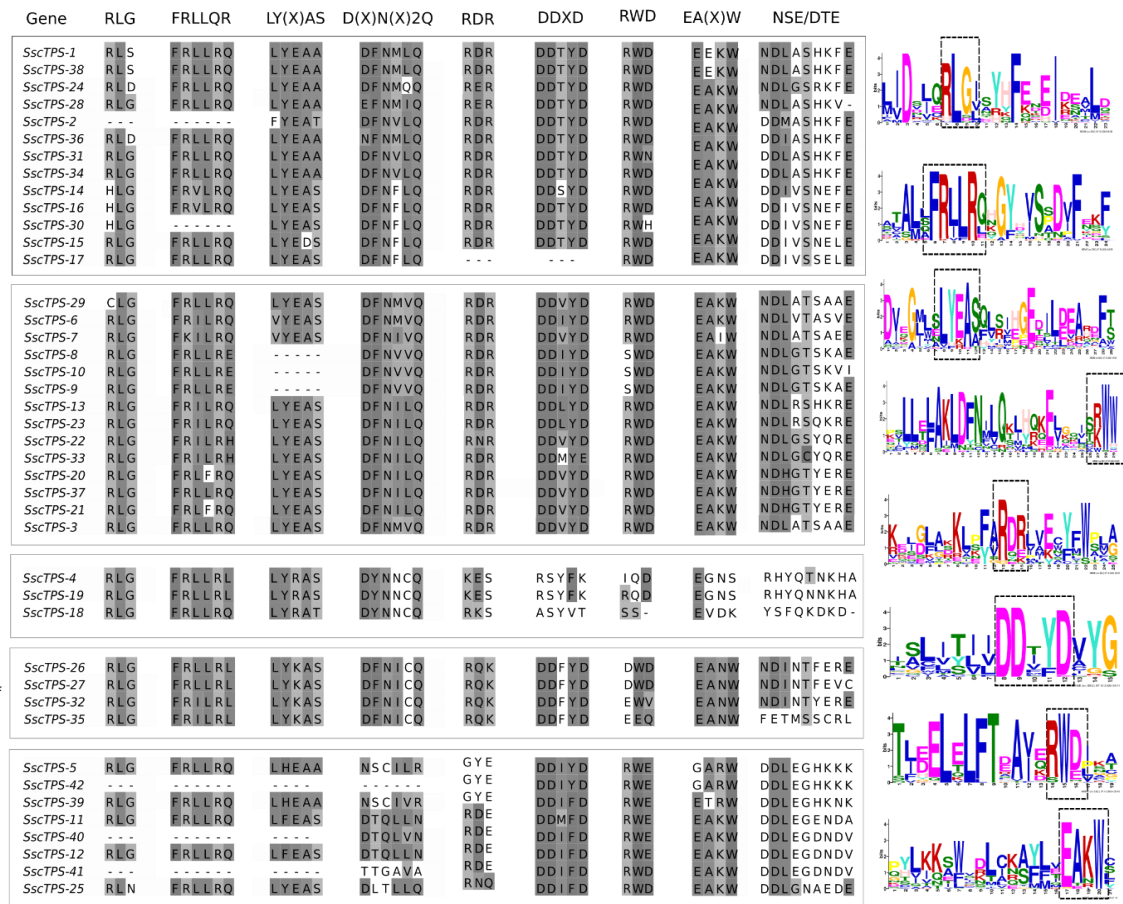
Entre as regiões com elevado grau de conservação presentes no genoma de *S. cabra*, a análise de *motifs* constatou a presença de nove motivos conservados (Figura 09). Entre os *motifs*, 39 (92,9%) apresentaram o DDxxD, alocados em toda a distribuição das subfamílias, com exceção ao clado TPS-c que apresentou baixa conservação, indicando que os SscTPS identificados no genoma devam ser predominadas por enzimas TPS de classe I (Peng *et al.*, 2022). A ausência desse motivo presente nas TPSs-c é consistente com a função da proteína, tendo em vista que as mesmas não clivam a unidade de prenil difosfato e, portanto, não se espera que possuam o motivo DDxxD.

No entanto, essas proteínas contêm um motivo DXDD, essencial para a reação de iniciação da protonação em TPSs de classe II, desempenhando um papel crucial no processo catalítico (Chen *et al.*, 2021). Ademais, trabalhos anteriores também relacionaram a função catalítica presente motivo DDxxD, demonstrando eficiência nas primeiras etapas de ionização do difosfato de isopentenila e difosfato de dimetilalila, assim como na coordenação de moléculas de água e de íons divalentes, atuando na estabilização do sítio ativo e na formação dos terpenos e suas respectivas classes (Jiang *et al.*, 2024; Tan *et al.*, 2024).

Adicionalmente, sete genes possuíam o motivo proteico NSE/DTE, restritos a subfamília TPS-a, TPS-b e TPS-e/f, que juntamente ao DDxxD e RDR desempenham função essenciais em reações catalíticas, correspondendo a estruturas típicas de TPSs de classe I (Peng *et al.*, 2022). Ademais, os SscTPSs contendo o motivo NSE/DTE, presentes nos clados TPS-c e TPS-g, exibiram baixos índices de conservação, resultando na perda completa dessas regiões (Figura 9).

A baixa conservação e a limitada compreensão do motivo proteico DDxx, assim como de outras regiões, incluindo, LY(x)AS, EA(X)W, são esperadas devido à reduzida conservação. De maneira que, a atuação específica dessas regiões e suas respectivas funções carece de mais pesquisas (Liang *et al.*, 2023). Entretanto, levantamentos genômicos recentes em seringueira (*Hevea Brasiliensis*) indicaram possíveis atividades catalíticas desses motivos (Liang *et al.*, 2023).

Figura 9. Alinhamento delimitado de seqüências de aminoácidos para motivos conservados em terpeno sintase no genoma de *S. scabra*.



Fonte: Autor (2025)

Desse modo, a análise indicou que, dos 42 analisados, apenas 39 possuem potencial para apresentar atividades relacionadas à caureno sintase. Esse fator está diretamente relacionado à presença dos motivos conservados DDxxD e NSE/DTE, essenciais para a atividade catalítica das terpeno sintases (TPS), quais são responsáveis pela coordenação de cofatores metálicos, formando um cluster de magnésio trinuclear que facilita a interação com o substrato, que permite sua ligação ao sítio ativo da enzima (Chen *et al.*, 2011; degenhardt; Köllner; Gershenzon, 2009; Liang *et al.*, 2023).

Dessa forma, a integridade conservada dos motivos DDxxD e NSE/DTE pode indicar particular relevância a atividade enzimática sob condições de estresses (Toffolati *et al.*, 2021), em especial déficit hídrico (Ma *et al.*, 2024; Sun *et al.*, 2022), quais permitem a síntese contínua de terpenoides que atuam como moléculas de defesa e sinalização (He *et al.*, 2023). De modo

que, a conservação desses motivos não apenas assegura a atividade catalítica sob condições ideais, mas contribui para a adaptação do organismo vegetal (Chen *et al.*, 2021; Liang *et al.*, 2023).

No que diz respeito a análise de domínio, as SscTPS apresentaram sete diferentes domínios conservados, bem como indicaram variações significativas entre os diferentes clados investigados. Ainda que pouco discutida a funcionalidade em plantas, os domínios conservados presentes em vegetais modernos são estruturalmente similares os encontrados em bactérias (Liu *et al.*, 2014b), uma vez que foi proposto que muitas terpeno sintase vegetais podem ter surgido de diterpeno ciclastes bacterianas, através da transferência horizontal de genes (Yan *et al.*, 2022b).

Frente a isso, os domínios *Terpene_cyclase_plant_C1* (acesso: cd00684), e *Isoprenoid_Biosyn_C1* (acesso: cd00385), correspondendo a 66.7% e 9,5% dos domínios identificados, são integrantes da superfamília *Isoprenoid_Biosyn_C1* (acesso: cl00210), quais foram observados e anotados exclusivamente em representantes dos clados TPS-a, TPS-b e TP-g. Ambos os domínios são pertencentes a superfamília de trans-isoprenil difosfato sintases (IPPS), sendo o domínio responsável por sintetizar geranyl difosfato (GPP) e farnesil difosfatos (FPP), assim como produtos de cadeia mais longa, precursores de isopreno, isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP) (Lackus *et al.*, 2019; Jutersek *et al.*, 2024), atuando na síntese majoritária de terpenoides (Drumond *et al.*, 2022).

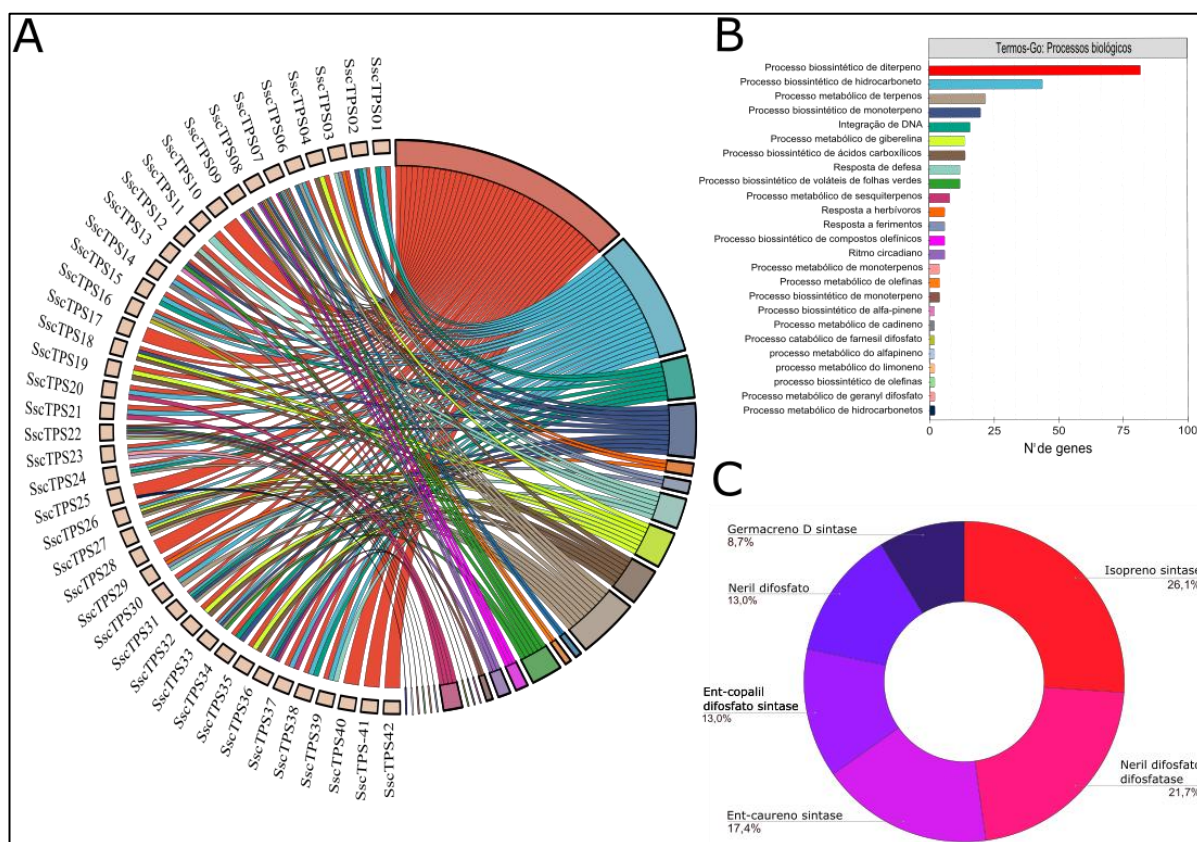
Em contraste, os clados TPS-c, TPS-e/f e TPS-g exibiram unicamente os motivos PLN2592 (ent-copalil difosfato sintase, acesso: cl33526), PLN02279 (ent-kaur-16-ene sintase, acesso: cl31856) e *Terpene_synth_C* (acesso: cl47853), respectivamente (Figura 7D). Entre os domínios, PLN02279 juntamente *Terpene_synth_C* correspondem a membros da família ent-coureno (KS), qual é caracterizando como fundamental na biossíntese do ent-caureno, um precursor das giberelinas (Teng *et al.*, 2024), hormônio vegetal essencial para germinação, alongamento celular e resposta a estresses ambientais, a exemplo da suspensão de rega (Acharya *et al.*, 2024). Resultados semelhantes puderam no genoma de *Paeonia suffruticosa*, *Oryza sativa* e membros da família Rosaceae (Ma *et al.*, 2024; Sun *et al.*, 2022; Teng *et al.*, 2024).

4.4 ANOTAÇÃO FUNCIONAL DOS GENES SscTPS

Por se tratarem de enzimas que podem diferir em seus perfis de produto e na localização onde são encontradas, as TPSs apresentam baixa precisão na predição de similaridade. Assim, o presente estudo conseguiu apenas inferir, de forma aproximada, as vias em que estão envolvidas. A análise funcional da composição dos genes TPS (SscTPS) de *S. scabra* revelou que, dos 42 genes identificados, 41 foram estavam envolvidos em 27 termos do *Gene Ontology* (GO), todos pertencentes à categoria de Processos Biológicos (PB) (Figura 10). A alta variabilidade biossintética desses terpenoides pode sugerir um papel de destaque na regulação da síntese de terpenoides, indicando sua importância funcional nesse processo (Li *et al.*, 2022b). Além disso, a predição funcional referente aos TPSs minerados, indicou que todos apresentaram funções relacionadas a terpenoides, bem como puderam ser identificados enquanto terpenos e suas determinadas classes, a qual enfatiza a confiabilidade da identificação do SscTPS.

Entre esses, o termo "processo biossintético de diterpeno (GO:0016102)" se destacou, com 41 membros do conjunto SscTPS associados. Ademais, termos como "processo metabólico de terpenos (GO:0042214)" e "processos de biossíntese de monoterpenos" (GO:0043693), também figuraram entre os principais processos biológicos dos quais os genes SscTPS estavam envolvidos (Figura 10A, B). A análise referente ao mapeamento GO identificados, podem indicara o envolvimento de genes SscTPS em uma ampla gama de processos de desenvolvimento vegetal. Resultados semelhantes puderam ser observados por Puttamadanayaka *et al.*, (2024) ao analisar o transcriptoma tolerante de *Pennisetum pedicellatum* (Falso-capim-custódio) submetidos a estresses hídricos, qual o mesmo atribuiu os termos encontrados com a finalidade de resposta ao estímulo, defesa e biossíntese de metabólitos secundários, o que pode relacionar a atuação desses determinados termos à resposta a seca. Além disso, levantamentos relacionados a respostas transcricionais de raízes de soja submetidos a diferentes estresses, relacionou os termos a defesa da planta e proteínas de choque térmico envolvidas em resposta a vários estresses abióticos a exemplo do calor, alta luminosidade e salinidade, conforme Bajaj *et al.*, 2018.

Figura 10. Análise de enriquecimento funcional da ontologia genética (GO) e análise da via da enciclopédia de genes e genomas de Kyoto (KEGG) de genes diferencialmente expressos. (A) Gráfico de termos GO com relação ao SscTPSs; (B) Gráfico em barra processos biológicos GO; (C) Gráfico de rosca KEGG.



Fonte: Autor (2025)

Além disso, a análise de enriquecimento em vias metabólicas do KEGG revelou que 23 genes SscTPS estavam associados a seis vias distintas. Entre elas, seis genes (SscTPS-3, SscTPS-6, SscTPS-7, SscTPS-8, SscTPS-9 e SscTPS-29) estavam associados a via de 'isopreno sintase' (K12742); cinco genes (SscTPS-11, SscTPS-12, SscTPS-25, SscTPS-40 e SscTPS-41) à via de 'nerolidol sintase' (K14175); e três genes foram relacionados às vias de 'ent-caureno sintase' (K04120) (SscTPS-4, SscTPS-18 e SscTPS-19), 'neril difosfato difosfatase' (K24668) (SscTPS-5, SscTPS-39 e SscTPS-42), e 'germacreno D sintase' (K15803) (SscTPS-16 e SscTPS-17) (Figura 10, C).

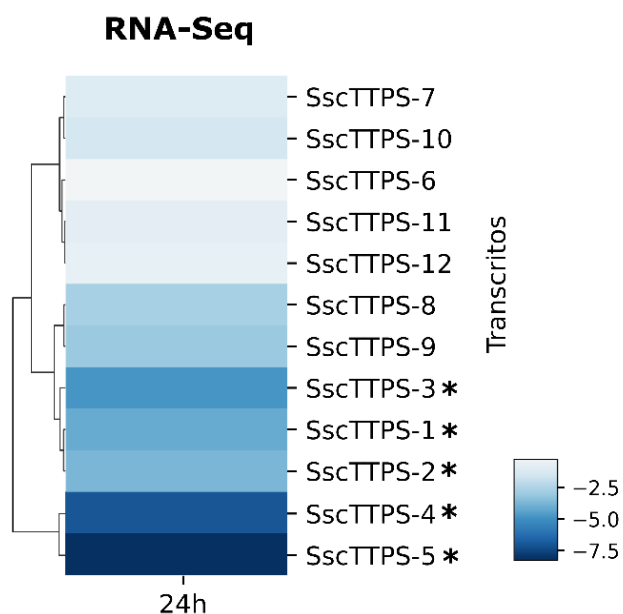
A síntese de compostos como 'nerolidol sintase' e 'ent-caureno sintase' está diretamente relacionada à formação de fitohormônios, os quais desempenham papéis reguladores importantes (Peng *et al.*, 2022). Essas substâncias, devido às suas propriedades físicas e à sua biossíntese, podem atuar como intermediários na proteção do organismo vegetal contra diferentes tipos de estresses, incluindo seca, herbivoria, variações climáticas e ataques de patógenos (Batish *et al.*, 2008; Chan *et al.*, 2016; Teng *et al.*, 2024)

4.5 EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE GENES DE TERPENO SINTASE EM RESPOSTA A PRIVAÇÃO DE ÁGUA

Com o objetivo de investigar os genes TPSs e sua determinada presença no transcriptoma traduzido de *S. scabra*, os dados foram coletados após 24 horas de exposição a privação de água. Posteriormente, a sonda proteica Pfam: PF03936 (C-terminal) e PF01397 (N-terminal) juntamente a ferramenta BLASTp revelou 91 sequências candidatas, dessas, por padrão, foram eliminadas sequencias redundantes, bem como as que não apresentaram domínio completo. Como resultado, 15 genes TPS putativos foram identificados e renomeados de SscTTPs. Essa técnica permitiu identificar com maior precisão genes diferencialmente expressos, sendo especialmente eficaz em estudos relacionados ao estresse hídrico (Puttamadanayaka *et al.*, 2024).

Uma vez identificados, genes SscTTPs presentes no transcriptoma radicular foram utilizados como candidatos na avaliação de sua expressão diferencial sob condições de supressão de rega. Dessa forma, a análise indicou a presença de 12 genes TPS diferencialmente expressos (SscTTPS-1 ao SscTTPS-12), dos quais cinco apresentaram a regulação negativa (SscTTPS-1, SscTTPS-2, SscTTPS-3, SscTTPS-4, SscTTPS-5) e sete se mantiveram expressão constitutiva (SscTTPS-6, SscTTPS-7, SscTTPS-8, SscTTPS-9, SscTTPS-10, SscTTPS-11, SscTTPS-12) (Apêndice D; Figura 11).

Figura 11. Heatmap com expressão diferencial dos transcritos. Membros que apresentaram Fold change > 2, p-value e FDR <0.05 foram indicados com (*).



Ao analisar os genes presentes submetidos ao estresse por privação de água, a repressão é esperada, visando o caráter hidrofílico da família (Li *et al.*, 2022b). Além disso, quando analisado o caráter funcional dessas sequências foi possível observar a atuação no processo biossintético diterpenóide (GO:0016102) em todas as SscTTPSs atribuída majoritariamente como percurso na formação de giberilina (GA) (Sun *et al.*, 2016; Zhou; Pichersky *et al.*, 2020; He *et al.*, 2023). Considerada um fitormônio diterpenóides tetracíclicos, a giberilina pode atuar em diferentes processos que induzem o desenvolvimento vegetal, sendo geralmente suprimidas quando submetidas a estresses osmóticos (Shohat *et al.*, 2021), bem como associada a resposta a estresses (Wang, Yue *et al.*, 2025), podendo ser consideradas indicadoras de resposta ao estresse hídrico (Kittipornkul *et al.*, 2024). Além disso, a repressão dos transcritos também pode estar relacionada ao curto período de exposição, uma vez que trabalhos anteriores envolvendo *Camellia sinensis* apresentaram respostas tardias frente a estresses abióticos, sendo esses devidamente expressos posterior a um período de 48 horas (Zhou *et al.*, 2020b). Dessa forma, a redução da atividade dos terpenoides sob condições de suspensão de rega pode estar associada a mecanismos de resposta à seca. Resultados semelhantes puderam ser observados no transcriptoma radicular de chihu (*Bupleurum chinense*) quando submetida a suspensão de rega, onde o número de genes regulados negativamente foi maior do que o de genes regulados positivamente nos diferentes estágios de estresse de seca, indicando que o estresse de déficit hídrico teve um efeito inibitório na expressão gênica de *B. chinense* (Yang *et al.*, 2022b).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Dados coletados no genoma da *S. scabra* apresentaram vasta distribuição, abordando todas as sub-famílias TPS presentes em angiospermas.
- Foram identificados 42 genes putativos no genoma, divididos em cinco famílias distintas.
- A família TPS mais abundante foi a TPS-b, com 14 representantes identificados pertencente a esse clado.
- Clados distintos apresentaram variações significativas, como peso molecular, ponto isoelétrico e, principalmente, número de íntrons e éxons.
- Entre os motivos conservados, o DDxxD esteve presente em todos os demais clados com exceção ao TPS-c onde apresentou baixa conservação.
- Todos os 41 genes putativos apresentaram funções relacionadas a terpeno sintase
- Genes SscTTPSs presente no transcriptoma de *S.scabra* apresentaram a expressão reprimida quando submetidos a 24h de privação de água, qual pode estar potencialmente relacionado a suspensão da atividade das giberilinas em resposta na adaptação frente a estresses abióticos.
- Este é o primeiro estudo envolvendo a distribuição de TPS presente no gênero *Stylosanthes* (Sw.), qual sua caracterização genômica pode fornecer base para futuras ações biotecnológicas voltadas para a exploração desses genes no âmbito da agricultura.
- Pesquisas futuras envolvendo abordagens metabolômicas poderão contribuir para uma compreensão mais aprofundada da síntese desses metabólitos secundários, bem como de seus papéis específicos na defesa das plantas contra estresses abióticos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, F. et al. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. **Planta**, v. 246, p. 803-816, 2017.
- ACHARYA, B. R. *et al.* Estratégias para combater o estresse de salinidade em plantas: o potencial de microrganismos promotores do crescimento de plantas. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1406913, 2024.
- AMIST, N.; SINGH, N. B. Regulatory role of strigolactones in abiotic stress tolerance. In: **Strigolactones**. Academic Press, 2024. p. 201-220.
- AMORIM, L.A; SANTOS, A. M. Reflexos do Último Ciclo de Estiagem na Produção Agropecuária em Municípios Suscetíveis à Desertificação no Semiárido de Pernambuco. **Geografia (Londrina)**, v. 33, n. 1, p. 249-263, 2024.
- AHMADI, S. Z. *et al.* Comparative morpho-physiological and biochemical responses of *Capsicum annuum* L. plants to multi-walled carbon nanotubes, fullerene C60 and graphene nanoplatelets exposure under water deficit stress. **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 116, 2024.
- ALLEN, Keith D. *et al.* Genomic characterization of the complete terpene synthase gene family from *Cannabis sativa*. **PloS one**, v. 14, n. 9, p. e0222363, 2019.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- AMORIM, Leiane Alencar; DOS SANTOS, Antônio Marcos. Reflexos do Último Ciclo de Estiagem na Produção Agropecuária em Municípios Suscetíveis à Desertificação no Semiárido de Pernambuco. **Geografia (Londrina)**, v. 33, n. 1, p. 249-263, 2024.
- AMORIM, Louise Duarte Matias de *et al.* Fabaceae na Floresta Nacional (FLONA) de Assú, semiárido potiguar, nordeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, n. 1, p. 105-124, 2016.
- ALQUÉZAR, B. *et al.* Genomic analysis of terpene synthase family and functional characterization of seven sesquiterpene synthases from *Citrus sinensis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1481, 2017.
- ARAÚJO, Sérgio Murilo Santos. As secas e suas consequências sobre os recursos do semiárido brasileiro. **Revista de geociências do Nordeste**, v. 7, n. 1, p. 52-58, 2021.
- ARECHE, F. Ore *et al.* Recent and historical developments in chelated fertilizers as plant nutritional sources, their usage efficiency, and application methods. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e271055, 2023.
- AUBOURG, S.; LECHARNY, A.; BOHLMANN, J. Genomic analysis of the terpenoid synthase (AtTPS) gene family of *Arabidopsis thaliana*. **Molecular genetics and genomics**, v. 267, p. 730-745, 2002.

ASSIRY, A. **Origin and evolution of the forage allotetraploid species *Stylosanthes scabra***. Disponível em: <<https://botany.one/2019/01/origin-and-evolution-of-the-forage-allotetraploid-species-stylosanthes-scabra/>>. Acesso em: 11 dez. 2024.

BAJAJ, R. *et al.* Transcriptional responses of soybean roots to colonization with the root endophytic fungus *Piriformospora indica* reveals altered phenylpropanoid and secondary metabolism. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 10227, 2018.

BAROI, A. *et al.* Absciscic acid and glycine betaine-mediated seed and root priming enhance seedling growth and antioxidative defense in wheat under drought. **Heliyon**, v. 10, n. 9, 2024.

BARTUSEK, S.; KORNHUBER, K.; TING, M. 2021 North American heatwave amplified by climate change-driven nonlinear interactions. **Nature Climate Change**, v. 12, n. 12, p. 1143-1150, 2022.

BATISH, Daizy R. *et al.* Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest ecology and management**, v. 256, n. 12, p. 2166-2174, 2008.

BORGES, C. K. *et al.* Seasonal variation of surface radiation and energy balances over two contrasting areas of the seasonally dry tropical forest (Caatinga) in the Brazilian semi-arid. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 8, p. 524, 16 jul. 2020.

BRANDÃO, M. B. COSTA N. M. S. 1979. O gênero *Stylosanthes* Sw. no Brasil. **Epamig**, Minas Gerais. 107 p.

BRANDÃO, M. S. *et al.* Morphology and genetic divergence of *Stylosanthes scabra* Vog. accesses. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences / Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 19, n. 3, p. 1–9, 2024.

CAMERON, D. F.; CHAKRABORTY, S. Forage potential of *Stylosanthes* in different production systems. 2004.

CANAL, Drielli *et al.* Genome-wide identification, expression profile and evolutionary relationships of TPS genes in the neotropical fruit tree species *Psidium cattleianum*. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 3930, 2023.

CARVALHO, A. T. F. Caracterização climática da quadra chuvosa de município do semiárido brasileiro, entre os anos de 2013 a 2017. **Geografia em Atos**, v. 2, n. 17, p. 04-23, 2020.

CHANDRA, A. Biotechnology of *Stylosanthes*. In: JAIN, S. M.; DUTTA GUPTA, S. (orgs.). **Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. p. 217–241. DOI 10.1007/978-94-007-5500-0_10. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-007-5500-0_10. Acesso em: 3 jun. 2024.

CHANDRA, A.; KAUSHAL, P. Identification of diploid *Stylosanthes scabra* accessions from existing germplasm of *S. scabra* utilizing genome-specific STS markers and flow cytometry, and their molecular characterization. **Molecular biotechnology**, v. 42, p. 282-291, 2009.

CHEN, Chengjie *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. **Molecular plant**, v. 13, n. 8, p. 1194-1202, 2020.

CHEN, Feng *et al.* The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **The Plant Journal**, v. 66, n. 1, p. 212-229, 2011.

CHEN, F.; THOLL, D.; BOHLMANN, J.; PICHERSKY, E. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **The Plant Journal**, v. 66, n. 1, p. 212–229, 2011.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04520>

CHEN, Xinlu *et al.* Discovery of bifunctional diterpene cyclases/synthases in bacteria supports a bacterial origin for the plant terpene synthase gene family. **Horticulture Research**, v. 11, n. 10, p. uhae221, 2024.

CHEN, Zequn *et al.* Genome-wide analysis of terpene synthase gene family in *Mentha longifolia* and catalytic activity analysis of a single terpene synthase. **Genes**, v. 12, n. 04, p. 518, 2021.

CHRISTIANSON, D. W. Structural and Chemical Biology of Terpenoid Cyclases. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 17, p. 11570–11648, 13 set. 2017.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00287>.

COELHO, W. S. S. *et al.* The combination of abiotic stresses influences the physiological responses and production of *Macropodium* genotypes. **Plant Physiology Reports**, v. 29, n. 1, p. 105-115, 2024.

COSTA, L. C.; VALLS, J. F. M. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro: R. C. E. A. Forzza, 2010.

COSTA, L.C.; SARTORI, A.L.B.; POTT, A. Estudo taxonômico de *Stylosanthes* (Leguminosae-Papilionoideae-Dalbergieae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 547-572, 2008.

CRUZ, N. T. *et al.* Estresse hídrico em plantas forrageiras: uma breve revisão. **Revista científica rural**, v. 25, n. 1, p. 221–238, 2023.

DAI, X.; SHEN, L. Avanços e tendências no desenvolvimento de tecnologia ômica. **Frontiers in Medicine**, v. 9, p. 911861, 2022.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T.G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, n. 15-16, p. 1621-1637, 2009.

DINIZ, W. P. S. *et al.* Yield and nutritive value of *Stylosanthes* spp. genotypes subjected to different harvest frequencies and seasons of the year. **The Journal of Agricultural Science**, v. 161, n. 6, p. 808-816, 2023.

FALARA, V. *et al.* The tomato terpene synthase gene family. **Plant physiology**, v. 157, n. 2, p. 770-789, 2011.

HUANG, Li-Min *et al.* Evolution of terpene synthases in Orchidaceae. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 13, p. 6947, 2021.

IRMISCH, S. *et al.* Terpene synthases and their contribution to herbivore-induced volatile emission in western balsam poplar (*Populus trichocarpa*). **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 1-16, 2014.

KITTIPORNKUL, Piyatida *et al.* The potential of proline as a key metabolite to design real-time plant water deficit and low-light stress detector in ornamental plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 25, p. 36152-36162, 2024.

DUBEUX JR, J. B. *et al.* Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114890, 2021.

FERNANDES, M. F.; CARDOSO, D.; DE QUEIROZ, L. P. An updated plant checklist of the Brazilian Caatinga seasonally dry forests and woodlands reveals high species richness and endemism. **Journal of Arid Environments**, v. 174, p. 104079, 1 mar. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.104079>.

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

FERREIRA-NETO, J. R. C. *et al.* Bridging the Gap: Combining Genomics and Transcriptomics Approaches to Understand *Stylosanthes scabra*, an Orphan Legume from the Brazilian Caatinga. **Plants**, v. 12, n. 18, p. 3246, 2023.

FONSECA, R. F.; NASCIMENTO, K.S.; MEDEIROS, F. F. Circulação atmosférica na região tropical em condições de el niño e la niña e sua influência na pluviosidade do semiárido nordestino. **Educação, Ciência e Saúde**, v. 9, n. 1, 9 ago. 2022.

FORTUNA-PEREZ, A. P.; SILVA, M. J. da; TOZZI, A. M. G. de A. *Stylosanthes* (Leguminosae-Papilionoideae-Dalbergiae) no estado de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, p. 615–628, set. 2011.

GAO, Wenjie *et al.* Overexpression of GPS and FPS from *Chrysanthemum indicum* var. aromaticum resulted in modified trichome formation and terpenoid biosynthesis in tobacco. **Plant Growth Regulation**, v. 99, n. 3, p. 553-566, 2023.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, v. 3, n. 7, p. 408–414, jul. 2007.
<https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.5>.

GISSI. Flora e Funga do Brasil - *Stylosanthes* Sw. 2024. Disponível em:
<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB29854>. Acesso em: 3 jun. 2024.

GODOY, F. *et al.* Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 186, 2021.

GOVERNO FEDERAL, Em 60 anos, temperaturas máximas aumentaram em até 3oC em algumas regiões do Brasil. Disponível em: <<https://www.gov.br/mcti/pt-br/acompanhe-o-mcti/noticias/2023/08/em-60-anos-temperaturas-maximas-aumentaram-em-ate-3oc-graus-em->

algumas-regioes-do-brasil>. Acesso em: 21 fev. 2025.

GREEN, E. D.; WATSON, J. D.; COLLINS, F. S. Human Genome Project: Twenty-five years of big biology. **Nature**, v. 526, n. 7571, p. 29–31, out. 2015. <https://doi.org/10.1038/526029a>.

HAIDER, S. *et al.* Molecular mechanisms of plant tolerance to heat stress: current landscape and future perspectives. **Plant Cell Reports**, p. 1-25, 2021.

HE, J. *et al.* Estresse pelo frio regula o acúmulo de flavonoides e terpenoides em plantas por fitohormônio, processo de transcrição, enzima funcional e epigenética. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 43, n. 5, p. 680-697, 2023.

HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; ANDRADE, H. J.; BARRIOS, M. Agricultural drought assessment in dry zones of Tolima, Colombia, using an approach based on water balance and vegetation water stress. **Science of The Total Environment**, v. 921, p. 171144, 15 abr. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171144>.

INSTITUTO NACIONAL DO SEMIÁRIDO. O Semiárido Brasileiro. 2014. **Instituto Nacional do Semiárido - INSA**. Disponível em: <https://www.gov.br/insa/pt-br/semiarido-brasileiro/o-semiarido-brasileiro>. Acesso em: 8 jun. 2024.

JIANG, L. *et al.* An improved genome assembly of *Chrysanthemum nankingense* reveals expansion and functional diversification of terpene synthase gene family. **BMC genomics**, v. 25, n. 1, p. 593, 2024.

JIANG, S-Y *et al.* A comprehensive survey on the terpene synthase gene family provides new insight into its evolutionary patterns. **Genome biology and evolution**, v. 11, n. 8, p. 2078-2098, 2019.

JÚNIOR, G. N. A. *et al.* Estresse hídrico em plantas forrageiras: Uma revisão. **Pubvet**, v. 13, p. 148, 2018

JUTERŠEK, M. *et al.* Identificação e caracterização informadas pelo transcriptoma dos genes da cis- e trans-isoprenil difosfato sintase de *Planococcus citri*. **Iscience**, v. 27, n. 4, 2024.

KARIA, C. T. *et al.* Caracterização morfológica de acessos do gênero *Stylosanthes* no banco ativo de germoplasma da Embrapa Cerrados-coleção 1994/1995. 2002.

KARIA, C. T. Caracterização genética e morfoagronômica de germoplasma de *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) SW. 2008. 140f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Curso de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Goiás. GO.

KARUNANITHI, P. S.; ZERBE, P. Terpene synthases as metabolic gatekeepers in the evolution of plant terpenoid chemical diversity. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1166, 2019.

KAVOURAS, E. A. Q. N.; ANDRADE M., A. J. A Multifuncionalidade dos Serviços Eossistêmicos no bioma Caatinga: conservação e sustentabilidade. **COLÓQUIO-Revista do Desenvolvimento Regional**, v. 21, n. 4, out./dez., p. 54-77, 2024.

KATOH, K.; TOH, H. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. **Bioinformatics**, v. 26, p. 1899-1900, 2010.

KUMAR S.; Stecher G.; Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 33(7): 1870–1874.

LACERDA, G. M. C. Redescobrimos tesouros: um olhar sobre a biodiversidade da Caatinga na atualidade. **Revista Macambira**, v. 8, n. 1, p. 1-23, 2024.

LACKUS, D. *et al.* Identification and characterization of trans-isopentenyl diphosphate synthases involved in herbivory-induced volatile terpene formation in *Populus trichocarpa*. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2408, 2019.

LEBELOANE, M. M. *et al.* Evaluation of minerals, trace elements, and antinutritional factors in selected legume fodder species (Fabaceae) with the potential to improve cattle nutrition and gastrointestinal health. **South African Journal of Botany**, v. 171, p. 120-128, 2024.

LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44-77, fev. 2017.

LEITE, J. P. A.; SÁ, L. N.; FILHO, G. B.R. Fatores climáticos atuantes no semiárido de pernambuco: uma abordagem didática da geografia em sala de aula. **International journal education and teaching**, v. 4, n. 2, p. 14–32, 30 ago. 2021.

LEITE, N. M. G. *et al.* Estudo da viabilidade de implementação de cisternas no semiárido brasileiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89401-89426, 2020.

LESSA, T. *et al.* Known unknowns: Filling the gaps in scientific knowledge production in the Caatinga. **PLoS One**, v. 14, n. 7, p. e0219359, 2019.

LETRA AMBIENTAIS. **Situação climática do novo Semiárido brasileiro a partir de mapas**. Brasil, 2022 Disponível em: <<https://www.letrasambientais.org.br/posts/situacao-climatica-do-novo-semiarido-brasileiro-a-partir-de-mapas>>. Acesso em: 1 mar. 2025.

LEWIS, G. Legumes of Bahia. **Royal Botanical Gardens**. 369, p. 1987

LI, Changyan *et al.* Advances in the biosynthesis of terpenoids and their ecological functions in plant resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 14, p. 11561, 2023.

LI, Mengyao *et al.* Genome-wide identification and analysis of terpene synthase (TPS) genes in celery reveals their regulatory roles in terpenoid biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1010780, 2022.

LI, Shuo *et al.* The physiological role of abscisic acid in regulating root system architecture of alfalfa in its adaptation to water deficit. **Agronomy**, v. 12, n. 8, p. 1882, 2022.

LIANG, J. *et al.* In silico genome-wide mining and analysis of terpene synthase gene family in *Hevea brasiliensis*. **Biochemical Genetics**, v. 61, n. 3, p. 1185-1209, 2023.

LIU, C. J.; MUSIAL, J. M. *Stylosanthes* sp. aff. *S. scabra*: a putative diploid progenitor of *Stylosanthes scabra* (Fabaceae). **Plant systematics and evolution**, v. 208, p. 99-105, 1997.

- LIU, C. J.; MUSIAL, J. M.; THOMAS, B. D. Genetic relationships among *Stylosanthes* species revealed by RFLP and STS analyses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, n. 7, p. 1179–1186, 1 nov. 1999.
- LIU, J. *et al.* Genome-wide analysis of terpene synthases in soybean: functional characterization of GmTPS3. **Gene**, v. 544, n. 1, p. 83-92, 2014a.
- LIU, Y. *et al.* O enriquecimento de ozônio e o estresse de seca têm efeitos mais negativos em espécies lenhosas leguminosas invasoras do que em espécies nativas co-ocorrentes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 217, p. 105580, 2024.
- LIU, W. *et al.* Structure, function and inhibition of ent-kaurene synthase from *Bradyrhizobium japonicum*. **Scientific reports**, v. 4, n. 1, p. 6214, 2014b.
- LOPES, Juliana Mainenti Leal *et al.* Water stress modulates terpene biosynthesis and morphophysiology at different ploidal levels in *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae). **Protoplasma**, v. 261, n. 2, p. 227-243, 2024.
- MA, B. *et al.* Functional Analysis of PsHMGR1 and PsTPS1 Related to Floral Terpenoids Biosynthesis in Tree Peony. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 22, p. 12247, 2024.
- MA, S. *et al.* Transcriptomic and physiological analysis of *atractylodes chinensis* in response to drought stress reveals the putative genes related to sesquiterpenoid biosynthesis. **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 91, 2024.
- MAROYI, A. Medicinal Uses of the Fabaceae Family in Zimbabwe: A Review. **Plants**, v. 12, n. 6, p. 1255, jan. 2023.
- MARQUES, A. *et al.* Origin and parental genome characterization of the allotetraploid *Stylosanthes scabra* Vogel (Papilionoideae, Leguminosae), an important legume pasture crop. **Annals of Botany**, v. 122, n. 7, p. 1143-1159, 2018.
- MÁRQUEZ-GODOY, J. N.; GONZÁLEZ-ESCOBEDO, R.. Omic technologies for the exploration of the soil biocrust. **Terra Latinoamericana**, v. 40, 2022.
- MEDEIROS, E. C.S.; FLORES, A. S. O gênero *Stylosanthes* (Leguminosae) em Roraima, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, p. 235–244, mar. 2014.
- MEDEIROS, A.S *et al.* Soil carbon losses in conventional farming systems due to land-use change in the Brazilian semi-arid region. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 287, p. 106690, 2020.
- MEDEIROS, S.E.L. *et al.* Influence of climatic variability on the electricity generation potential by renewable sources in the Brazilian semi-arid region. **Journal of Arid Environments**, v. 184, p. 104331, 2021.
- MOHLENBROCK, R. H. A Revision of the Genus *Stylosanthes*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 44, n. 4, p. 299–355, 1957.
- MONTEIRO, J. *et al.* A influência de teleconexões e sistemas meteorológicos produtores de precipitação no semiárido nordestino. **Revista brasileira de Geografia Física**, v. 15, p. 312-

332, 2022.

MOTA-ITUARTE, M. *et al.* Water deficit and salinity modify some morphometric, physiological, and productive attributes of Aloe vera (L.). **Botanical Sciences**, v. 101, n. 2, p. 463-475, 2023.

MPANZA, T. D. E.; HASSEN, A. Effects of Stylosanthes scabra Forage Supplementation on in Vitro Gas Production and Fiber Degradation of Eragrostis Grass Hay. **Agricultural Sciences**, v. 14, n. 4, p. 522–540, 7 abr. 2023.

MPANZA, T. D. E.; HASSEN, A.; AKANMU, A. M. Evaluation of Stylosanthes scabra Accessions as Forage Source for Ruminants: Growth Performance, Nutritive Value and In Vitro Ruminal Fermentation. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 1939, nov. 2020.

MUKARRAM, M.; CHOUDHARY, S.; KURJAK, D.; PETEK, A.; KHAN, M. M. A. Drought: Sensing, signalling, effects and tolerance in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 1291–1300, 2021.

NASCIMENTO, W. F. *et al.* Análise baseada em SNP revela alta estrutura genética e diversidade em umbuzeiro (Spondias tuberosa Arruda), espécie nativa e endêmica do bioma Caatinga. **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-16, 2024.

NETO, J. A. S.; OLIVEIRA, V.S.; VALENÇA, R. de L. Leguminosas adaptadas como alternativa alimentar para ovinos no semiárido – revisão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 2, p. 191–200, 21 ago. 2015.

NIEUWENHUIZEN, N.J. *et al.* Functional genomics reveals that a compact terpene synthase gene family can account for terpene volatile production in apple. **Plant Physiology**, v. 161, n. 2, p. 787-804, 2013.

NITHYA, C. *et al.* Diferentes sistemas silvi-pastoris para melhorar a produção pecuária em áreas de sequeiro da Zona Noroeste de Tamil Nadu. **International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry**, v9, n.3, p. 633-636, 2024.

OLIVEIRA, D.G. *et al.* Composição e similaridade florística de um fragmento de Caatinga em Sergipe, Brasil. **Geoambiente On-line**, n. 38, p. 250-273, 2020.

OTOMO, K. Ent-and syn-copalyl diphosphate synthase in rice: key enzymes for the branch point of gibberellin and phytoalexin biosynthesis. **Plant J.**, 2004.

PÁDUA, J. G. *et al.* Conservação dos Recursos Genéticos Vegetais no Brasil. In: **Utilização Sustentável e Conservação da Diversidade Genética Vegetal**. Singapura: Springer Nature Singapore, 2024. p. 795-819.

PALAI, G. *et al.* Water deficit before veraison is crucial in regulating berry VOCs concentration in Sangiovese grapevines. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1117572, 2023.

PESSOA, A. M. S.; SANTOS, B. R. C.; SANTOS, A. G.; PESSOA, R. M. S. Potentialities of Plant Species Native to the Caatinga. **Open Access Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 1, 23 ago. 2021.

PICHERSKY, E.; RAGUSO, R. A. Why do plants produce so many terpenoid compounds? **New Phytologist**, v. 220, n. 3, p. 692–702, 2018.

PIZZIO, G. A. *et al.* Basal ABA signaling balances transpiration and photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, v. 176, n. 5, p. e14494, 2024.

PUTTAMADANAYAKA, S. *et al.* Unravelling the molecular mechanism underlying drought stress tolerance in Dinanath (*Pennisetum pedicellatum* Trin.) grass via integrated transcriptomic and metabolomic analyses. **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 928, 2024.

QIU, C. *et al.* Functional characterization and screening of promiscuous kinases and isopentenyl phosphate kinases for the synthesis of DMAPP via a one-pot enzymatic cascade. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 12904, 2022.

QUEIROZ, Luciano Paganucci *et al.* Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**, p. 23-63, 2017.

QUEIROZ, R.M. *et al.* Adaptive strategies in *Stylosanthes scabra* populations from three ecogeographic regions from Pernambuco-Brazil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, p. 320-325, 2001.

RAJAPPA, Sivamathini *et al.* The translocation of a chloride channel from the Golgi to the plasma membrane helps plants adapt to salt stress. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 3978, 2024.

RAMOS, G. G. *et al.* Levantamento dos impactos ambientais de um trecho de mata ciliar em região de Caatinga no sertão paraibano. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 52848-52859, 2020.

RAMOS, S. R. R.; QUEIROZ, MA de; PEREIRA, T. N. S. Recursos genéticos vegetais: manejo e uso. **Magistra**, v. 19, n. 04, p. 265-273, 2007.

READ, Tim; VANCE, Don; BLUEPRINTS, Sun. Robust Clustering: A Comparison of Sun™ Cluster 3.0 versus Sun Cluster 2.2 Software. **Sun BluePrints™ OnLine**, v. 2001, p. 1-23, 2001.

REDDY, Rama S. *et al.* Knowledge and adoption gaps of *Stylosanthes* seed production practices followed by farmers of Anantapur, Andhra Pradesh. **Range Management and Agroforestry**, v. 45, n. 1, p. 162-166, 2024.

ROCHA, M. *et al.* The past, present and future of genomics and bioinformatics: A survey of Brazilian scientists. **Genetics and molecular biology**, v. 45, n. 2, p. e20210354, 2022.

RUDOLF, J. D.; CHANG, C.-Y. Terpene synthases in disguise: enzymology, structure, and opportunities of non-canonical terpene synthases. **Natural product reports**, v. 37, n. 3, p. 425–463, 25 mar. 2020. SALDANHA, Alok J. Java Treeview—extensible visualization of microarray data. **Bioinformatics**, v. 20, n. 17, p. 3246-3248, 2004.

SALDANHA, Alok J. Java Treeview—extensible visualization of microarray data. **Bioinformatics**, v. 20, n. 17, p. 3246-3248, 2004.

- SANTANA, M.V.A; OLIVEIRA, D. V. B; ALBUQUERQUE, U.. Investigando os serviços ecossistêmicos culturais da Caatinga no Flickr. **Etnobiologia e Conservação**, v. 14, 2025.
- SANTOS-GARCIA, M. O. *et al.* Using genetic diversity information to establish core collections of *Stylosanthes capitata* and *Stylosanthes macrocephala*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, p. 847-861, 2012.
- SANTOS, W. R. *et al.* Can changes in land use in a semi-arid region of Brazil cause seasonal variation in energy partitioning and evapotranspiration?. **Journal of Environmental Management**, v. 367, p. 121959, 2024.
- SÃO MATEUS, W. M. B. *et al.* Papilionoideae (Leguminosae) na Mata Atlântica do Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Neotropical**, v. 13. n. 4, p. 315-362. 2013
- SILVA, A. G, *et al.* O manejo florestal sustentável da caatinga. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. 18 jun. 2021.
- SILVA, E. F. da *et al.* Genetic resources of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) in protected areas in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 44, p. e-834, 2022.
- SILVA, F. P.; CASTRO, Francelita Coelho; DA CRUZ JUNIOR, Adalberto Gonzaga. Processo de desertificação e perda de diversidade Biológica no Semiárido Brasileiro. **Revista Ouricuri**, v. 14, n. Edição Especial-02, p. 03-11, 2024.
- SILVA, O. J. *et al.* Genome-wide characterization of the terpene synthase gene family in *Ricinus communis* and its transcriptional regulation under heat stress. **Agronomy Journal**, v. 114, n. 6, p. 3272-3282, 2022.
- SILVA, J. N. B. *et al.* Estimativas de sequestro de carbono por diferentes métodos em ecossistemas florestais: uma abordagem sobre a floresta tropical sazonalmente seca (Caatinga). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 12, n. 1, 2024.
- SINANI, T. R. F. *et al.* Papilionoideae (Leguminosae) in Brazilian Chaco. **Rodriguésia**, v. 70, p. e04542017, 2019.
- SIMÓN, B. F. *et al.* Scion-rootstock interaction and drought systemic effect modulate the organ-specific terpene profiles in grafted *Pinus pinaster* Ait. **Environmental and Experimental Botany**, v. 186, p. 104437, 2021.
- STACE, H. M.; CAMERON, D. F. Cytogenetics and the evolution of *Stylosanthes*. 1984.
- SHAHZAD, A. *et al.* Nexus on climate change: agriculture and possible solution to cope future climate change stresses. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 12, p. 14211–14232, 29 jan. 2021.
- SHOHAT, H. *et al.* Inhibition of gibberellin accumulation by water deficiency promotes fast and long-term ‘drought avoidance’ responses in tomato. **New Phytologist**, v. 232, n. 5, p. 1985-1998, 2021.
- SONG, X. *et al.* Deciphering the high-quality genome sequence of coriander that causes controversial feelings. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 6, p. 1444-1456, 2020.

SOUSA, L. *et al.* Spatiotemporal analysis of rainfall and droughts in a semiarid basin of Brazil: land use and land cover dynamics. **Remote Sensing**, v. 15, n. 10, p. 2550, 2023.

SPANIC, V. *et al.* Changes in Metabolites Produced in Wheat Plants Against Water-Deficit Stress. **Plants**, v. 14, n. 1, p. 10, 2024.

SUN, Peng *et al.* Composition diversity and expression specificity of the TPS gene family among 24 Ficus species. **Diversity**, v. 14, n. 9, p. 721, 2022.

SULTANA, R. *et al.* Signaling and defence mechanism of jasmonic and salicylic acid response in pulse crops: role of WRKY transcription factors in stress response. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-17, 2024.

TAN, H. H. *et al.* Functional characterization of ent-kaurane-type diterpenoid synthases from *Stellera chamaejasme*. **Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 49, n. 9, p. 2410-2421, 2024.

TENG, Y. *et al.* Genome-Wide Identification and Expression Analysis of ent-kaurene synthase-like Gene Family Associated with Abiotic Stress in Rice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 10, p. 5513, 2024.

TINGEY, D. T. *et al.* Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. **Plant Physiology**, v. 65, n. 5, p. 797-801, 1980.

Stylosanthes scabra Vogel - **Tropical Forages**. Australian, 2020. Australian Centre for International Agricultural Research. Disponível em: <https://tropicalforages.info/text/entities/stylosanthes_scabra.htm>. Acesso em: 5 dez. 2024.

URANO, K. *et al.* Analysis of plant hormone profiles in response to moderate dehydration stress. **The Plant Journal**, v. 90, n. 1, p. 17-36, 2017.

VANDER S. J. *et al.* Phylogenetic analysis of *Stylosanthes* (Fabaceae) based on the internal transcribed spacer region (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **Plant Systematics and Evolution**, v. 234, p. 27-51, 2002.

WANG, W. *et al.* The terpene synthase (TPS) gene family in kiwifruit shows high functional redundancy and a subset of TPS likely fulfil overlapping functions in fruit flavour, floral bouquet and defence. **Molecular Horticulture**, v. 3, n. 1, p. 9, 2023.

WANG, Y. *et al.* Transcriptome, miRNA, and degradome sequencing reveal the leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) resistance genes in Tibetan hulless barley. **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 71, 2025.

WEILNHAMMER, V. *et al.* Extreme weather events in europe and their health consequences—A systematic review. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 233, p. 113688, 2021.

World Flora Online. *Stylosanthes scabra* Vogel. **WFO**. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000174281>. Acesso em: 01 mar 2025

XING, J. *et al.* Ethylene accelerates maize leaf senescence in response to nitrogen deficiency by regulating chlorophyll metabolism and autophagy. **The Crop Journal**, 2024.

- YANG, Linlin *et al.* Drought stress stimulates the terpenoid backbone and triterpenoid biosynthesis pathway to promote the synthesis of saikosaponin in *Bupleurum chinense* DC. roots. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5470, 2022b.
- YAN, X-M. *et al.* Unraveling the evolutionary dynamics of the TPS gene family in land plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1273648, 2023.
- YAN, Y. *et al.* Tissue-specific expression of the terpene synthase family genes in *Rosa chinensis* and effect of abiotic stress conditions. **Genes**, v. 13, n. 3, p. 547, 2022.
- YU, C-S. *et al.* Prediction of protein subcellular localization. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 64, n. 3, p. 643-651, 2006.
- ZHAN, X.; QIAN, Y.; MAO, B. Metabolic Profiling of Terpene Diversity and the Response of Prenylsynthase-Terpene Synthase Genes during Biotic and Abiotic Stresses in *Dendrobium catenatum*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 12, p. 6398, jan. 2022.
- ZHANG, H. *et al.* Abiotic stress responses in plants. **Nature Reviews Genetics**, v. 23, n. 2, p. 104-119, 2022.
- ZHANG, X. *et al.* Identification and functional characterization of three new terpene synthase genes involved in chemical defense and abiotic stresses in *Santalum album*. **BMC Plant Biology**, v. 19, p. 1-18, 2019.
- ZHANG, A. *et al.* Diversity and functional evolution of terpene synthases in rosaceae. **Plants**, v. 11, n. 6, p. 736, 2022.
- ZHANG, C-P. *et al.* Genome-wide identification and characterization of terpene synthase genes in *Gossypium hirsutum*. **Gene**, v. 828, p. 146462, 2022.
- ZHAO, C. *et al.* Functional characterization of a *Dendrobium officinale* geraniol synthase DoGES1 involved in floral scent formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7005, 2020.
- ZHOU, F.; PICHERSKY, E. More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. **Current opinion in plant biology**, v. 55, p. 1-10, 2020.
- ZHOU, H.C. *et al.* Analysis of terpene synthase family genes in *Camellia sinensis* with an emphasis on abiotic stress conditions. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 933, 2020b.
- ZHUMANOVA, N. *et al.* A comprehensive review of new generation plant growth regulators. **ES Food & Agroforestry**, v. 17, p. 1190, 2024.

APÊNDICE

APÊNDICE A: Análise de gene SscTPS presente no genoma de *S.scabra* deduzido pelo software GENESTATS

IDS	Genes	comprimento da sequência transcrita	número de éxons	comprimento total da sequência do éxon	número de íntrons	comprimento total da sequência do íntrons	número de blocos CDS	comprimento total da sequência CDS	número de sequência 5'UTR	comprimento total da sequência 5'UTR	número de sequências UTR 3	Comprimento total da sequência 3'UTR
SscTPS-1	PIB30_003461-T3	3520	7	2154	6	1366	7	1707	1	81	1	366
SscTPS-2	PIB30_003463-T1	3472	7	1464	6	2008	7	1464	0	0	0	0
SscTPS-3	PIB30_004752-T1	3057	5	1881	4	1176	5	1785	0	0	1	96
SscTPS-4	PIB30_007839-T1	6308	7	1980	6	4328	7	1821	0	0	1	159
SscTPS-5	PIB30_010256-T1	7299	11	3067	10	4232	11	2931	0	0	1	136
SscTPS-6	PIB30_014003-T1	4551	7	1797	6	2754	7	1797	0	0	0	0
SscTPS-7	PIB30_014004-T1	2950	7	1890	6	1060	7	1890	0	0	0	0
SscTPS-8	PIB30_014340-T1	25906	8	1670	8	24236	8	1524	0	0	1	146
SscTPS-9	PIB30_014340-T2	25906	10	1569	8	24236	8	1524	0	0	1	146
SscTPS-10	PIB30_014340-T3	3955	15	2370	14	1585	15	2370	0	0	0	0
SscTPS-11	PIB30_015156-T1	25906	7	1773	8	24236	8	1524	0	0	1	146
SscTPS-12	PIB30_015158-T1	3189	7	1743	6	1446	7	1743	0	0	0	0
SscTPS-13	PIB30_020936-T1	33973	7	1785	6	32188	7	1785	0	0	0	0
SscTPS-14	PIB30_022094-T1	4191	7	1662	6	2529	7	1662	0	0	0	0
SscTPS-15	PIB30_023665-T1	5830	6	1596	5	4234	6	1509	1	23	1	64
SscTPS-16	PIB30_029038-T1	4299	7	1710	6	2589	7	1710	0	0	0	0
SscTPS-17	PIB30_031340-T1	7634	6	1792	5	5842	6	1485	1	60	1	247
SscTPS-18	PIB30_031906-T1	2209	6	1494	5	715	6	1494	0	0	0	0
SscTPS-19	PIB30_031908-T1	6783	15	2655	14	4128	15	2445	1	93	1	117
SscTPS-20	PIB30_036784-T1	6391	7	2115	6	4276	7	1866	1	112	1	137
SscTPS-21	PIB30_036788-T1	5194	7	1818	6	3376	7	1818	0	0	0	0
SscTPS-22	PIB30_045002-T1	4109	6	1497	5	2612	6	1497	0	0	0	0
SscTPS-23	PIB30_045005-T1	4791	7	1788	6	3003	7	1788	0	0	0	0
SscTPS-24	PIB30_046054-T1	3520	7	1812	6	1366	7	1707	1	81	1	366
SscTPS-25	PIB30_046284-T1	3308	7	1770	6	1538	7	1770	0	0	0	0
SscTPS-26	PIB30_047971-T2	3500	13	2247	12	1253	13	2247	0	0	0	0
SscTPS-27	PIB30_047971-T3	6803	14	2460	13	4343	14	2382	0	0	1	78
SscTPS-28	PIB30_049299-T2	4450	6	2295	7	2155	6	1533	1	62	1	700
SscTPS-29	PIB30_050308-T1	2681	5	1791	4	890	5	1791	0	0	0	0
SscTPS-30	PIB30_058717-T1	5514	7	1758	6	3756	7	1758	0	0	0	0
SscTPS-31	PIB30_067180-T1	2740	6	1458	5	1282	6	1458	0	0	0	0
SscTPS-32	PIB30_070216-T1	6803	13	2647	13	4343	14	2382	0	0	1	78
SscTPS-33	PIB30_071538-T1	4329	7	1808	6	2521	7	1665	1	2	1	141
SscTPS-34	PIB30_071737-T1	4030	7	1704	6	2326	7	1704	0	0	0	0
SscTPS-35	PIB30_074926-T1	6749	14	2628	13	4121	14	2391	1	80	1	157
SscTPS-36	PIB30_080987-T2	3725	7	1835	7	1890	7	1686	1	36	1	113
SscTPS-37	PIB30_090248-T1	1465	3	1271	3	276	4	888	1	19	1	282
SscTPS-38	PIB30_092218-T1	4420	12	2399	11	2021	12	2238	1	30	1	131
SscTPS-39	PIB30_096896-T1	2902	6	1877	5	1025	6	1557	0	0	1	320
SscTPS-40	PIB30_015157-T1	1367	5	948	4	419	5	948	0	0	0	0
SscTPS-41	PIB30_043508-T1	1468	6	966	5	502	6	966	0	0	0	0
SscTPS-42	PIB30_087586-T1	1465	4	1189	3	276	4	888	1	19	1	282

Fonte: Autor (2025)

APÊNDICE B: Números de aminoácido observados em sequências consenso de motivos conservados

Motivo	Extensão	e-value	Sequência consenso
1	37	4.3e-447	ATALS FRLLR QHGFNVSPDVFESF
2	37	5.0e-340	KQIGLASKLSFS RDR LMECFWVSFG
3	35	8.1e-332	LIDVLQ RLG IAYHFKNEIKNMLQ
4	34	3.0e-331	TLDELELFTDAVER WDV NA
5	36	2.0e-433	DVQGMWS LYEAA QLRVHGEDIIEEAHEFT
6	32	5.0e-389	PTLLQFAKL DFNIL QTIIYQQLKDSSRW
7	39	4.2e-332	PYLKKA ^W CDLCKSFLQ EAKWS
8	42	6.6e-307	ELPECMKVCFKALYQVTNEFA
9	33	8.4e-262	PPIFIEIAVNLARMSMCMYHD
10	38	1.1e-254	TSFITH DDIYD VYG

Fonte: Autor (2025)

APÊNDICE C: Análise de processos biológico presentes genes localizados no transcriptoma da *S. scabra* submetidos ao déficit hídrico.

ID	Gene	Biological process Estimated PPV, GO-id, description	Cellular component Estimated PPV, GO-id, description
SscTTPS-1	TR28022 c0_g1_i1	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.32 GO:0016020 membrane
SscTTPS-2	TR28022 c0_g1_i2	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	
SscTTPS-3	TR28664 c0_g2_i1	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.34 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-4	TR28664 c0_g2_i2	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.34 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-5	TR28664 c0_g2_i6	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	
SscTTPS-6	TR28664 c0_g2_i9	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	
SscTTPS-7	TR64750 c1_g3_i5	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.33 GO:0005737 cytoplasm
SscTTPS-8	TR68921 c0_g1_i2	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.34 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-9	TR68921 c0_g1_i3	0.82 GO:0016102 diterpenoid biosynthetic process	0.35 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-10	TR70898 c1_g1_i2	0.83 GO:0009686 gibberellin biosynthetic process	0.64 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-11	TR70898 c1_g1_i4	0.83 GO:0009686 gibberellin biosynthetic process	0.64 GO:0009507 chloroplast
SscTTPS-12	TR70898 c1_g1_i6	0.83 GO:0009686 gibberellin biosynthetic process	0.64 GO:0009507 chloroplast

Fonte: Autor (2025)

APÊNDICE D: Expressão diferencial de genes TPS presentes no transcriptoma radicular da *S. scabra* quando submetida a suspensão de rega

IDS	Gene	log_FC	edger.p.value	edger.adj.p-value	Expressão
SscTTPS-1	TR28022 c0_g1_i1	-4,156	0,0025	0,049	DR
SscTTPS-2	TR28022 c0_g1_i2	-3,77	0,0015	0,035	DR
SscTTPS-3	TR28664 c0_g2_i1	-4,849	0,00035	0,013	DR
SscTTPS-4	TR28664 c0_g2_i2	-7,043	0,0012	0,031	DR
SscTTPS-5	TR28664 c0_g2_i6	-8,267	0,0000033	0,00039	DR
SscTTPS-6	TR28664 c0_g2_i9	-0,217	0,89	0,98	CONST
SscTTPS-7	TR64750 c1_g3_i5	-1,141	0,24	0,54	CONST
SscTTPS-8	TR68921 c0_g1_i2	-2,759	0,01	0,12	CONST
SscTTPS-9	TR68921 c0_g1_i3	-3,058	0,011	0,12	CONST
SscTTPS-10	TR70898 c1_g1_i2	-1,488	0,062	0,31	CONST
SscTTPS-11	TR70898 c1_g1_i4	-0,864	0,28	0,58	CONST
SscTTPS-12	TR70898 c1_g1_i6	-0,698	0,39	0,68	CONST

Fonte: Autor (2025)