

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
25/01/2020.

THIAGO BARBOSA BATISTA

**LONGEVIDADE DE SEMENTES CONDICIONADAS DE TOMATE: ESTUDOS
FISIOLÓGICOS E MOLECULARES**

Botucatu

2018

THIAGO BARBOSA BATISTA

**LONGEVIDADE DE SEMENTES CONDICIONADAS DE TOMATE: ESTUDOS
FISIOLÓGICOS E MOLECULARES**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agronômicas
da Unesp Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Edvaldo
Aparecido Amaral da Silva

Co-orientador: Dr. Júlio Maia de
Oliveira

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Batista, Thiago Barbosa, 1992-
B333L Longevidade de sementes condicionadas de tomate: estudos fisiológicos e moleculares / Thiago Barbosa Batista. - Botucatu: [s.n.], 2018
59 p.: fots. color., grafs., ils. color, tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2018
Orientador: Edvaldo Aparecido Amaral da Silva
Coorientador: Júlio Maia de Oliveira
Inclui bibliografia

1. Tomate - Sementes. 2. Sementes - Fisiologia. 3. Tecnologia de sementes. 4. Sementes - Qualidade. 5. Choque térmico. I. Silva, Edvaldo Aparecido Amaral da. II. Oliveira, Júlio Maia de. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. IV. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: LONGEVIDADE DE SEMENTES CONDICIONADAS DE TOMATE: ESTUDOS FISIOLÓGICOS E MOLECULARES

AUTOR: THIAGO BARBOSA BATISTA

ORIENTADOR: EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA

COORIENTADOR: JULIO MAIA DE OLIVEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA
Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Voluntário Livre-Docente JOÃO NAKAGAWA
Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Dr. DAI TOKUHISA
Departamento de Operações / Sakata Seeds Sudamerica Ltda

Botucatu, 25 de julho de 2018

Aos meus pais,
José e Elivanda.

Aos meus avós,
Clarindo e Maria (*in memoriam*),
David (*in memoriam*) e Maria.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais pelo apoio incondicional, sem o qual jamais chegaria até aqui. E a toda a minha família, por toda compreensão e apoio.

A todos os meus amigos do Grupo de Oração Cenáculo, pelas orações e por serem minha família em Botucatu.

Ao Prof. Edvaldo A. Amaral da Silva, pela orientação, valorosos ensinamentos, paciência e exemplo profissional.

Ao Dr. Júlio Maia, pelas contribuições para a realização deste trabalho.

Ao Prof. João Nakagawa, pelos ensinamentos e disposição em esclarecer dúvidas e incentivo a pesquisa.

A toda equipe do Laboratório de Sementes: Denise, Tiago Alexandre, Karina, Letícia, Gabriel, Maria Rita, Maurício, Daiane Ajala, Juliana Bravo, Samara, Larissa, Carolina, Victória, Girlânio Holanda, Bárbara Panoff, Gilberto, Rubiana, Matheus, Fabiola, Andrea Akemi; pelo apoio na execução do trabalho e amizade. Tenho o maior orgulho em fazer parte deste laboratório.

À todos os professores do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP/Botucatu pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal: Eliane, Iara, Amanda e Debora; e em especial a Valéria, por toda disposição e auxílio para tornar o ambiente do Laboratório de Sementes o melhor lugar para se trabalhar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio concedido por meio de bolsa de mestrado (Processo nº 2016/10716-1).

Ao CNPq pelo apoio financeiro para realização da pesquisa (Projeto CNPq: Processo nº 420374/2016).

Meus sinceros agradecimentos.

“Pelo amor de deus, rapaz! Já não basta eu ter respondido tantas perguntas suas? O que mais você quer saber?”

“E Pippin respondeu: "Tudo! Quero saber sobre o céu e a terra e o nome de todas as estrelas, claro! Porque menos?”

J. R. R. Tolkien.

RESUMO

O *Priming* é uma tecnologia utilizada para aprimorar a qualidade fisiológica de sementes. Todavia, a técnica reduz a longevidade das sementes. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a aplicação de Epibrassinolídeo (EpiBL), ácido abscísico (ABA) e choque térmico (CT) associado ao *priming* para estender a longevidade das sementes de tomateiro e estudar o transcriptoma do tratamento que prolongar a longevidade das sementes condicionadas. As sementes dois acessos de *S. lycopersicum* foram condicionadas em solução de PEG -1,0 MPa (tratamento tradicional) pelo período de 60 horas (h) a 20 °C. Alternativamente, foram associados os tratamentos com 0,1 µM de EpiBL, 1 µM de ABA e após o *priming* as sementes foram secas pelo período de 24 h a 20 °C e ±60% de umidade relativa (UR). O choque térmico foi aplicado após o condicionamento submetendo-se as sementes a ambiente de 32% UR/38 °C pelo período de 2 h e posteriormente ao ambiente de 20 °C e ±60% UR. Avaliou-se a qualidade fisiológica da sementes pela germinação, velocidade de germinação (T50), uniformidade (T16-84) e a longevidade a 75% UR/35 °C. O *priming* aprimorou a qualidade fisiológica das sementes de *S. lycopersicum* com benefício adicional a velocidade de germinação empregando-se EpiBL e choque térmico. O choque térmico após o *priming* é capaz de ampliar a longevidade das sementes condicionadas e a análise de transcriptoma revelou abundancia e expressão de transcritos *sHSP* e *HSPs*, associadas a longevidade de sementes.

Palavras-chave: Choque térmico. *Priming*. Qualidade de sementes.

ABSTRACT

Seed priming is a technology used to improve the physiological quality of seeds. However, the technique reduces seed longevity. Therefore, the aim of this work was to evaluate the application of Epibrassinolide (EpiBL), abscisic acid (ABA) and heat shock (CT) associated with priming to extend the longevity of tomato seeds and the associated transcriptome application of treatment to prolong longevity of conditioned seeds. The seeds two accessions of *S. lycopersicum* were conditioned in PEG solution -1.0 MPa (traditional treatment) for the period of 60 hours (h) at 20 °C. Alternatively, the treatments were associated with 0.1 µM EpiBL, 1 µM ABA and after priming the seeds were dried for up to 24 h at 20 °C and ±60% relative humidity (RH). The heat shock was applied after the conditioning by exhibition the seeds to 32% RH/38 °C for 2 h and then to the environment of 20 °C and ±60% RH. Physiological quality of the seeds was evaluated by germination, germination speed (T50), uniformity (T16-84) and longevity at 75% RH/35 °C. Priming improved the physiological quality of *S. lycopersicum* seeds with additional benefit to germination speed using EpiBL and heat shock. Heat shock after priming is able to extend the longevity of conditioned seeds and transcriptome analysis revealed abundance and expression of sHSP and HSPs transcripts, associated with seed longevity.

Keywords: Heat shock. Priming. Seed quality.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Longevidade de sementes	19
2.1.1	Longevidade e tolerância a dessecação	19
2.1.2	Mecanismos que aportam a longevidade	21
2.1.3	O papel hormonal na longevidade de sementes	23
2.1.4	Estudo da longevidade	24
2.2	<i>Priming</i> de sementes.....	24
2.3	Longevidade de sementes condicionadas.....	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Estudos Fisiológicos.....	27
3.1.1	Material vegetal	27
3.1.2	<i>Priming</i> e choque térmico.....	29
3.2	Estudos moleculares	32
3.2.1	Preparo e processamento do RNAseq.....	32
3.2.2	Alinhamento de <i>reads</i> e genes diferencialmente expressos (DEG)	32
3.2.3	Enriquecimento de <i>Gene Ontology</i> (GO).....	33
4	RESULTADOS	34
4.1	Efeito do <i>priming</i> em sementes de <i>S. lycopersicum</i>	34
4.2	Longevidade de sementes condicionadas de <i>S. lycopersicum</i>	37
4.3	Identificação de transcritos em resposta ao choque térmico após <i>priming</i>	40
5	DISCUSSÃO	44
5.1	<i>Priming</i> beneficia a qualidade de sementes de <i>S. lycopersicum</i>	44
5.2	O choque térmico é capaz de atenuar a perda da longevidade de sementes condicionadas	45
5.3	Importantes transcritos identificados no tratamento de choque térmico indicam a importância do sistema de proteção para longevidade de sementes condicionadas	47
6	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	53

6 CONCLUSÕES

O tratamento de *priming* beneficia maior velocidade de germinação das sementes e o choque térmico é capaz de ampliar a longevidade de sementes de *S. lycopersicum*.

O acúmulo de moléculas chaperonas do tipo *HSPs* está envolvido na retenção da longevidade em sementes condicionadas de tomate.

Os FTs *HSFA3* e *HSFB* são possíveis genes candidatos envolvidos no prolongamento da longevidade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. A. S. et al. Behavior of coffee seeds to desiccation tolerance and storage. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 4, p. 399-406, 2014.
- AMOOAGHAIE, R.; NIKZAD, K.; SHAREGHI, B. The effect of priming on emergence and biochemical changes of tomato seeds under suboptimal temperatures. **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 508-512, 2010.
- ANDERS, S.; PYL, P. T.; HUBER, W. HTSeq-A Python framework to work with high-throughput sequencing data. **Bioinformatics**, v. 31, n. 2, p. 166–169, 2015.
- ANESE, S. et al. Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St. Hil. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 1, p. 125-139, 2011.
- ARGERICH, C. A.; BRADFORD, K. J.; TARQUIS, A. M. The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 40, n. 5, p. 593-598, 1989.
- ASGHARIPOUR, M. R.; RAFIEI, M. The effects of osmo-priming on tomato seed germination. **Advances in Environmental Biology**, v. 5, n. 9, p. 2866-2870, 2011.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, p. 93–107, 2004.
- BALLESTEROS, D.; WALTERS, C. Detailed characterization of mechanical properties and molecular mobility dry seed glasses: relevance to the physiology of dry biological systems. **The Plant Journal**, v. 68, p. 607-619, 2011.
- BATISTA, T. B. et al. Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. **Bragantia**, v. 74, n. 4, p. 367-373, 2015.
- BEKH-OCHIR, D. et al. A novel mitochondrial DnaJ/Hsp40 family protein BIL2 promotes plant growth and resistance against environmental stress in brassinosteroid signaling. **Planta**, v. 237, p. 1509-1525, 2013.
- BETTEY, M.; FINCH-SAVAGE, W. E. Stress protein of mature *Brassica* seeds and their germination performance. **Seed Science Research**, v. 8, n. 3, p. 347-355, 1998.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013. 392 p.
- BRUGGINK, G. T.; OOMS, J. J. J.; van der TOORN, P. Induction of longevity in primed seeds. **Seed Science Research**, v. 9, n. 1, p. 49-53, 1999.

BUESO E, et al. ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX25 uncovers a role for gibberellins in seed longevity. **Plant physiology**, v. 164, p. 999-1010, 2014.

BUITINK, J.; HEMMINGA, M. A.; HOEKSTRA, F. A. Is there a role for oligosaccharides in seed longevity? An assessment of intracellular glass stability. **Plant Physiology**, v. 122, p. 1217-1224, 2000.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, v. 48, p. 214-228, 2004.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Intracellular glasses and seed survival in the dry state. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 788-795, 2008.

CHATELAIN, E. et al. Temporal profiling of the heat-stable proteome during late maturation of *Medicago truncatula* seeds identifies a restricted subset of late embryogenesis abundant proteins associated with longevity. **Plant, Cell and Environment**, v. 35, n. 8, p. 1440–1455, 2012.

CHEN, K.; ARORA, R. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 33-45, 2014.

CHEN, K.; FESSEHAIE, A.; ARORA, R. Dehydrin metabolism is altered during seed osmopriming and subsequent germination under chilling and desiccation in *Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale: possible role in stress tolerance. **Plant science: an international journal of experimental plant biology**, v. 183, p. 27-36, 2012.

CLERKX, E. J. M. et al. Genetic differences in seed longevity of various *Arabidopsis* mutants. **Physiologia plantarum**, v. 121, n. 3, p. 448-461, 2004.

DEBEAUJON, I.; LEON-KLOOSTERZIEL, K. M.; KOORNNEEF, M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 122, p. 403–414, 2000.

DHAUBHADEL, S. et al. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedling. **Plant Molecular Biology**, v. 40, p. 333-342, 1999.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**, n. 71, p. 428-434, 1958.

FAGAN, E. B. et al. **Fisiologia vegetal: reguladores vegetais**. Piracicaba: Andrei, 2015. 300 p.

FAN, F. et al. The DnaJ gene Family in pepper (*Capsicum annum* L.): comprehensive identification, characterization and expression profiles. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1-11, 2017.

FAROOQ, M. et al. Enhancement of tomato seed germination and seedling vigor by osmopriming. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 42, n. 3-4, p. 36-41, 2005.

GHO, M. et al. The plant heat stress transcription factors (HSFs): structure, regulation, and function in response to abiotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-13, 2016.

GOEL, A.; GOEL, A. K.; SHEORAN, I. S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal Plant Physiology**, v. 160, n. 9, p. 1093-1100, 2003.

GOLD, K.; HAY, F. **Equilibrating seeds to specific moisture levels**. Millennium seed bank partnership Kew. Informação técnica, n. 9, 2014.

GURUSINGHE, S.; POWELL, A. L. T.; BRADFORD, K. J. Enhanced expression of BiP is associated with treatment that extend storage longevity of primed tomato seeds. **Journal American Society Horticultural**, v. 127, n. 4, p. 528-534, 2002.

HE, D.; YANG, P. Proteomics of rice seed germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-9, 2013.

HILL, J. H. et al. Primed lettuce seeds exhibit increased sensitivity to moisture content during controlled deterioration. **HortScience**, v. 42, n. 6, p. 1436-1439, 2007.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. IPGRI Technical Bulletin. International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Itália, 1996.

JOOSEN, R. V. L. et al. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **Plant Journal**, v. 62, n. 1, p. 148–159, 2010.

KAUR, H. et al. Differentially expressed seed aging responsive heat shock protein OsHSP18.2 implicates in seed vigor, longevity, and improves germination and seedling establishment under abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-13, 2015.

KAUR, H.; PETLA, B. P.; MAJEE, M. Small heat shock proteins: roles in development, desiccation tolerance and seed longevity. In: ASEA, A. A. A.; CALDERWOOD, S.; KAUR, P. (Eds.). **Heat shock proteins and plants**, 2016. p 3-18.

KIM, D. et al. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. **Genome Biology**, v. 14, n. 4, 2013.

KOTAK, S. et al. A novel transcriptional cascade regulating expression of heat stress protein during seed development of *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 19, p. 182-195, 2007.

KUMAR, S. J. et al. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 663–668, 2015.

LANDJEVA, S.; LOHWASSER, U.; BÖRNER, A. Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. **Euphytica**, v. 171, p. 129-143, 2010.

LARA, T. S. et al. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 2, p. 72-80, 2014.

LEE, G. J. et al. A small heat shock protein stably binds heat- denatured model substrates and can maintain a substrate in a folding-competent state. **EMBO Journal**, v. 16, n. 3, p. 659–671, 1997.

LEE, G. J.; VIERLING, E. A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein. **Plant Physiology**, v. 122, p. 189-197, 2000.

LEUBNER-METZGER, G. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways. **Planta**, v. 213, n. 5, p. 758-763, 2001.

LIMA, J. J. P. et al. Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. **Plos One**, v. 12, n. 7, p. 1-25, 2017.

LIU, Y. et al. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. **Seed Science Research**, v. 6, n. 2, p. 49-55, 1996.

LOVE, M. I., HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, v. 15, n. 12, 2014.

MACHEREL, D. et al. Function and stress tolerance of seed mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 129, p. 233-241, 2007.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: Abrates, 2015. 660p.

MI, H. PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. **Nucleic Acids Research**, v. 45, p. 183-189, 2017.

MO, B.; BEWLEY, J. D. The relationship between β -mannosidase and endo- β -mannanase activities in tomato seeds during and following germination a comparison of seed populations and individual seeds. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.392, p.2503- 2510, 2003.

MO, B.; BEWLEY, J. D. β -mannosidase (Ec 3.2.1.25) activity during and following germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds: purification, cloning and characterisation. **Planta**, New York, v. 215 p.141-152, 2002.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **The Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

NASCIMENTO, W. M.; COSTA, C. J. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W. M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009, p. 345-396.

NASCIMENTO, W. M.; LIMA, L. B. Condicionamento osmótico de sementes de berinjela visando a germinação sob temperaturas baixas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 2, p.224-227, 2008.

NASCIMENTO, W. M. **Produção de sementes de hortaliças**. v. 2. Brasília: Embrapa, 2014. 342 p.

NISHIZAWA, A.; YABUTA, Y.; SHIGEOKA, S. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. **Plant Physiology**, v. 147, n.3, p. 1251–1263, 2008.

OGÉ L. et al. Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase 1 is involved in both seed longevity and germination vigor in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 20, n. 11, p. 3022– 3037, 2008.

PEREIRA, C. E. et al. Condicionamento fisiológico e revestimento de sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 1, p. 74-81, 2005.

PROBERT, R. et al.. Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. **Australian Journal of Botany**, v. 55, n. 3, p. 326–335, 2007.

RAIJ, B. van. et al. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. 285 p. (IAC. Boletim Técnico 100).

RAJJOU, L. et al. The effect of alpha-amanitin on the *Arabidopsis* seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination. **Plant Physiology**, v. 134, n. 4, p. 1598–1613, 2004.

RAJJOU, L.; DEBEAUJON, I. Seed longevity: survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 796-805, 2008.

SALLON, S. et al. Germination, genetics, and growth of an ancient date seed. **Science**, v. 320, p. 1464, 2008.

SANO, N. et al. Staying Alive: Molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiology**, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2016.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 70-84, 2000.

SATTLER, S. E. et al. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **Plant Cell**, v. 16, n. 6, p. 1419–1432, 2004.

SILVA, C. B. **Condicionamento fisiológico de sementes de pimentão com biorreguladores**. 2015. 100 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015a.

SILVA, C. B. et al. Performance of bell pepper seeds in response to drum priming with addition of 24-Epibrassinolide. **HortScience**, v. 50, n. 6, p. 873-878, 2015b.

SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Avaliação do vigor de sementes de tomate durante o armazenamento por meio de análise computadorizada de imagens de plântulas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 2317-2326, 2014.

STEVENSON, D. E.; HURST, R. D Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more?. **Cellular and Molecular life Sciences**, v. 62, n. 22, p. 2900-2916, 2007.

SUN, W.; MOTANGU, M. V.; VERBRUGGEN, N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. **Biochimica et Biophysica Acta – Gene structure and expression**, v. 1577, n. 1, p. 1–9, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TOOROP, P. E. **The role of endo- β -mananase activity in tomato seed germination**. 1998. 125 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Wageningen Agricultural University, Wageningen, 1998.

VALÁRIO, B. P. **Estudo da tolerancia a dessecação e longevidade em sementes de soja (*Glycine max* (L.) MERK)**. 2016. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

VERDIER, J. et al. A regulatory network-based approach dissects late maturation processes related to the acquisition of desiccation tolerance and longevity of *Medicago truncatula* seeds. **Plant Physiology**, v. 163, n. 2, p. 757-774, 2013.

VIERLING, E. The role of heat shock proteins in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 42, p. 579-620, 1991.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, v. 8, n. 2, p. 223-244, 1998.

WATERWORTH, W. M. et al. A plant DNA ligase is an important determinant of seed longevity. **Plant Journal**, v 63, n. 5, p. 848–860, 2010.

WORRALL, D. et al. Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. **The New phytologist**, v. 193, n. 3, p. 770-778, 2012.