

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
30/05/2021.

GIRLÂNIO HOLANDA DA SILVA

**RESTABELECIMENTO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES
GERMINADAS DE *Solanum lycocarpum* A. ST.-HIL.**

Botucatu

2019

GIRLÂNIO HOLANDA DA SILVA

**RESTABELECIMENTO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES
GERMINADAS DE *Solanum lycocarpum* A. ST.-HIL.**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Ciência Florestal.

Orientador: Dr. Edvaldo Aparecido Amaral
da Silva

Botucatu

2019

S586r	Silva, Gírlânio Holanda Restabelecimento da Tolerância à Dessecação de Sementes Germinadas de <i>Solanum lycocarpum</i> A. St.-Hil. / Gírlânio Holanda Silva. -- Botucatu, 2019 63 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientador: Edvaldo Silva 1. Sementes florestais. 2. Transcriptoma. 3. Solanaceae. 4. Cerrado. 5. Bioinformática. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados
fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

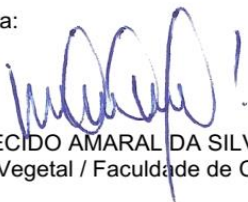
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

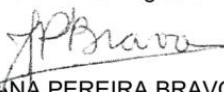
TÍTULO DA TESE: RESTABELECIMENTO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES
GERMINADAS DE *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.

AUTOR: GIRLÂNIO HOLANDA DA SILVA

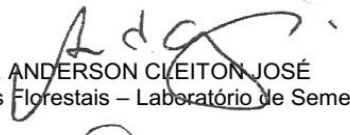
ORIENTADOR: EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA FLORESTAL
pela Comissão Examinadora:


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


Profª. Drª. JULIANA PEREIRA BRAVO
Agronomia / Faculdade La Salle


Voluntário Livre docente JOÃO NAKAGAWA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof. Dr. ANDERSON CLEITON JOSÉ
Ciências Florestais – Laboratório de Sementes Florestais / Universidade Federal de Lavras


Profª. Drª. HELOISA OLIVEIRA DOS SANTOS
Agricultura / Universidade Federal de Lavras

Botucatu, 30 de maio de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em quem sempre busquei força pra continuar lutando e insistindo pelo meu trabalho.

A meu pai, Givaldo, sempre presente em minhas lutas, e a Minha mãe, Lucineide, com seus cuidados comigo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva, obrigado pela orientação concedida e paciência durante esses anos.

Aos meus colegas de departamento pela amizade que tivemos: Pedro Bento, Felipe, Breno, Denise, Valéria, Karina, Tiago Batista, Tiago Alexandre, Larissa, Louise, Daiani, Samara, Carol, Amada, Rute, Maria Rita, Vitor, Melissa, Gilberto, Fabíola, Maurício, Andréia, Leonel, Denis, Yago.

Ao professor Dr. João Nakagawa pela amizade, contribuição na minha formação, excelente exemplo de profissional e valiosos conselhos que levarei sempre comigo.

A banca examinadora: Profa. Dra. Juliana Bravo, Prof. Dr. Anderson Cleiton José, Prof. Dr. Pedro Bento da Silva e Prof. Dr. João Nakagawa pela participação na banca.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

À FAPESP pela bolsa concedida e financiamento do projeto (n° 2016/05790-8).

RESUMO

A tolerância à dessecação (TD) em sementes ortodoxas é adquirida na fase de maturação e perdida com a germinação (protrusão radicular). Todavia, a utilização de polietileno glicol (PEG) pode restabelecer a TD em sementes germinadas. Objetivou-se neste trabalho restabelecer a tolerância à dessecação em sementes germinadas de *Solanum lycocarpum* e estudar o transcriptoma e os mecanismos associados a este processo. Quatro repetições de 50 sementes germinadas com comprimento de raiz primária de 1, 2, 3, 4 e 5 mm foram tratadas com PEG 8000 à -1,7 MPa e mantidas à 10 °C por 72 horas e, após esse período, as sementes germinadas foram secadas em ambiente com solução de cloreto de lítio (65% de UR e 20 °C) até atingirem a umidade de 8,7%, como a do tratamento controle, as sementes germinadas não tratadas. Em seguida, as sementes germinadas foram pré-umidificadas em atmosfera saturada com vapor d'água por 24 horas à 20 °C e, então, submetidas às condições de germinação. O RNA foi extraído e sequenciado de raízes primárias de 2 mm de comprimento tratadas com PEG e não tratadas. Foram utilizadas três repetições biológicas de 100 raízes primárias para cada biblioteca de RNA, para o sequenciamento (Paired-End 2 x 200 bp HiScan2500). Foram identificados aproximadamente 116.000 transcritos, dos quais 2896 genes tiveram expressão diferencial, 1.184 genes tiveram a expressão aumentada e 1.712 tiveram a expressão diminuída. Foram identificados genes relacionados ao restabelecimento da TD em *S. lycocarpum*, destacando-se as oleosinas, LEA14, GOLS1 e EMP1. A tolerância à dessecação em *S. lycocarpum* é governada por um complexo de interações e mecanismos moleculares, dos quais os principais são os processos biológicos e vias relacionadas ao metabolismo de lipídeos e respostas hormonais.

Palavras-chave: Sementes florestais. Transcriptoma. Solanaceae. Cerrado.

ABSTRACT

The desiccation tolerance (TD) in orthodox seeds is acquired during the maturation phase and lost with germination (root protrusion). However, the use of polyethylene glycol (PEG) can reestablish TD in germinated seeds. The aim of this research was to restore tolerance to desiccation in germinated seeds of *Solanum lycocarpum* and to study the transcriptome and mechanisms associated with this process. Four replicates of 50 germinated seeds with primary root length of 1, 2, 3, 4 and 5 mm were treated with PEG 8000 at -1.7 MPa and maintained at 10 °C for 72 hours and after that period the seeds germinated seeds were dried in a solution of lithium chloride solution (65% RH and 20 °C) until reaching the humidity of 8.7%, as the control treatment, the untreated germinated seeds. Then the germinated seeds were pre-humidified in an atmosphere saturated with water vapor for 24 hours at 20 °C and then submitted to the germination conditions. RNA was extracted and sequenced from 2 mm long primary roots treated with PEG and untreated. Three biological replicates of 100 primary roots were used for each RNA library for sequencing (Paired-End 2 x 200 bp HiScan2500). Approximately 116,000 transcripts were identified, of which 2896 genes had differential expression, 1,184 genes had increased expression and 1,712 had decreased expression. Genes related to the reestablishment of TD in *S. lycocarpum* were identified, with emphasis on oleosins, LEA14, GOLS1 and EMP1. The desiccation tolerance in *S. lycocarpum* is governed by a complex of interactions and molecular mechanisms, the main ones being the biological processes and pathways related to lipid metabolism and hormonal responses.

Keywords: Forest seeds. Transcriptome. Solanaceae. Cerrado.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Espécie.....	15
2.2	Tolerância a dessecação.....	15
2.3	Restabelecimento da tolerância a dessecação	16
2.4	Mecanismos fisiológicos e moleculares da tolerância a dessecação.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1	Coleta de sementes, germinação e curva de embebição.....	20
3.2	Caracterização da perda da tolerância à dessecação.....	20
3.3	Restabelecimento da tolerância à dessecação.....	21
3.4	Extração de RNA total.....	22
3.5	Sequenciamento e Análise de bioinformática.....	22
3.6	Estudo da RT-PCR em tempo real.....	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	APÊNDICE A – Dados suplementares.....	58

1 INTRODUÇÃO

A tolerância à dessecação é uma característica presente em vários organismos, como grãos de pólen, plantas, tardígrados, sementes e propágulos vegetativos (BEWLEY et al., 2013); esta capacidade permite aos organismos tolerar a secagem abaixo de $0,09 \text{ g.H}_2\text{O.g}^{-1}$ de massa seca, e após reidratação dar continuidade ao seu ciclo de vida (ALPERT, 2000; OLIVER et al., 2000; HOEKSTRA et al., 2001).

Espécies que possuem sementes ortodoxas são capazes de tolerar a secagem e ao armazenamento por longos períodos, estas sementes adquirem a tolerância à dessecação na fase de maturação (ROBERTS, 1973), mas com o início do processo germinativo estas se tornam sensíveis à dessecação, comportando-se como sementes recalcitrantes (LEPRINCE et al., 1993; BRADFORD, 1994; BUITINK et al., 2003).

Para que as sementes ortodoxas readquiram a capacidade de tolerar à dessecação são aplicados estímulos externos nas sementes germinadas para que possam reativar os mecanismos de tolerância à dessecação, o que pode ser feito por meio de estresse osmótico moderado com o uso polietileno glicol(PEG) ou aplicação de ácido abscísico(ABA) (BUITINK et al., 2003; FARIA et al., 2005; MAIA et al., 2011).

Sob condições de estresse osmótico, como a altas temperaturas, vários genes respondem a este estímulo para reinduzir a tolerância a dessecação, sendo o acúmulo de ABA um dos fatores principais que governam as mudanças fisiológicas que geram a tolerância a dessecação (MAIA et al., 2011; YOSHIDA et al., 2014).

Análises de transcriptoma mostram que genes envolvidos com a tolerância a estresses codificam proteínas LEA, enzimas de desintoxicação, chaperonas, fatores de transcrição (MARUYAMA et al., 2014; NAKASHIMA et al., 2014); plantas em condições de estresse aumentam os níveis de glicose, frutose, oligossacarídeos da família rafinose, aminoácidos de cadeia ramificada maiores em comparação às não estressadas (VERSLUES; JUENGER, 2011; MARUYAMA et al., 2014). Além disto, genes associados à fotossíntese tem expressão diminuída (MARUYAMA et al., 2012; SHARMA et al., 2013; HU; XIONG, 2014; TODAKA et al., 2015).

A identificação dos genes e a compreensão dos mecanismos responsáveis por conferir tolerância a dessecação em sementes podem auxiliar programas de

melhoramento genético de espécies cultivadas e avançar no conhecimento sobre sementes sensíveis à dessecação (KASUGA et al., 1999; ITO et al., 2006; SAKUMA et al., 2006; TODAKA et al., 2015). Assim, utilizar espécies nativas como modelo que apresentem genes relacionados a tolerância a dessecação e selecionar suas características pode ser uma estratégia para a conservação de sementes e auxiliar o processo de melhoramento de espécies agrícolas.

A espécie utilizada neste trabalho, *Solanum lycocarpum* A. ST.-HIL, é uma solanácea de porte arbustivo ou arbóreo conhecida como lobeira, cuja família apresenta grande importância comercial devido à utilização de suas espécies para fins agrícolas. A espécie apresenta distribuição por todo Cerrado brasileiro (LORENZI, 2002). Alguns trabalhos indicam que esta espécie possui tolerância a estresse hídrico, como relatado por Vidal et al. (1999) e Chaves Filho; Stacciarini-Seraphin (2001). Todavia, nenhum trabalho sobre a caracterização dos mecanismos moleculares que governam o reestabelecimento da tolerância à dessecação para esta espécie foi realizado.

Objetivou-se neste trabalho restabelecer a tolerância à dessecação em sementes germinadas de *S. lycocarpum* e estudar o transcriptoma e os mecanismos moleculares associados a este processo.

5 CONCLUSÕES

A tolerância a dessecação em sementes germinadas em *S. lycocarpum* pode ser restabelecida com aplicação de PEG à -1,7 MPa.

Foram identificados e validados genes relacionados ao restabelecimento da tolerância a dessecação em *S. lycocarpum*, dos quais se destacam as oleosinas, LEA14, GOLS1 e EMP1.

A tolerância a dessecação em *S. lycocarpum* é governada por um complexo de interações e mecanismos moleculares envolvidos, dos quais os principais são os processos biológicos e vias metabólicas lipídicas e respostas hormonais. A maioria dos transcritos possui expressão diminuída.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado**: Espécies Vegetais Úteis. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1998. 464 p.
- ALPERT, P. The discovery, scope, and puzzle of desiccation tolerance in plants. **Plant Ecology**, v. 151, n. 1, p. 5-17, 2000.
- ALPERT, P. The limits and frontiers of desiccation-tolerant life. **Integrative and Comparative Biology**, v. 45, n. 5, p. 685-695, 2005.
- ANGELOVICI, R. et al. A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 4, p. 211-218, 2010.
- BAILLY, C. et al. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 357, p. 701-708, 2001.
- BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, n. 2, p.145-164, 1998.
- BÄUMLEIN, H. et al. The FUS3 gene of *Arabidopsis thaliana* is a regulator of gene expression during late embryogenesis. **The Plant Journal**, v. 6, n. 3, p. 379-387, 1994.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, v. 101, n. 2, p. 213-228, 2008.
- BERJAK, Patricia; PAMMENTER, Norman. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 478, 2013.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds**: Physiology of development, germination and dormancy (3rd edition). New York, Springer, 2013.
- BEWLEY, J. D. Physiological aspects of desiccation tolerance. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 30, n. 1, p. 195-238, 1979.
- BLACKMAN, S. A. et al. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, v. 96, n. 3, p. 868-874, 1991.
- BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for illumina sequence data, **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 2014.
- BRADFORD, K. J. Water stress and the water relations of seed development: a critical review. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

BROWN, C. T. et al. A Reference-Free Algorithm for Computational Normalization of Shotgun Sequencing Data. **arXiv**, v. 1203, n. 2, p. 1-18, 2012.

BUITINK, J.; VU, B. L. SATOUR, P.; LEPRINCE, O. The re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn. seeds. **Seed Science Research**, v. 13, n. 4, p. 273-286, 2003.

BUITINK, J., et al. Transcriptome profiling uncovers metabolic and regulatory processes occurring during the transition from desiccation-sensitive to desiccation-tolerant stages in *Medicago truncatula* seeds. **The Plant Journal**, v. 47, n. 5, p. 735-750, 2006.

CAMPOS J. M. O eterno plantio: um reencontro com a natureza. Pensamento, Sao Paulo, 1994.

CANDAT, A. et al. The ubiquitous distribution of late embryogenesis abundant proteins across cell compartments in *Arabidopsis* offers tailored protection against abiotic stress. **The Plant Cell**, v. 26, n. 1, p. 3148-3166, 2014.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 5 ed. Jaboticabal: Funep, 2012, 590p.

CHAVES-FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

COSTA, M. C. D., et al. A gene co-expression network predicts functional genes controlling the re-establishment of desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta**, v. 242, n. 2, p. 435-449, 2015.

CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome, IPGRI, 100 p, 1985.

DIERKING, E. C; BILYEU, K. D. Raffinose and stachyose metabolism are not required for efficient soybean seed germination. **Journal of Plant Physiology**. v. 166, n. 12, p. 1329-1335, 2009.

DOWNIE, B. et al. Expression of a GALACTINOL SYNTHASE gene in tomato seeds is up-regulated before maturation desiccation and again after imbibition whenever radicle protrusion is prevented. **Plant Physiology**, v. 131, n. 3, p. 1347-1359, 2013.

DUNAEVA, M.; ADAMSKA, I. Identification of genes expressed in response to light stress in leaves of *Arabidopsis thaliana* using RNA differential display. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 21, p. 5521-5529, 2001.

EGERT, A. et al. Evidence for water deficit-induced mass increases of raffinose family oligosaccharides (RFOs) in the leaves of three *Craterostigma* resurrection plant species. **Frontiers in physiology**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2015.

ELIAS, S. R. M. et al. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p 169-174, 2003.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? **Journal of Experimental Botany**, v. 41, n. 9, p. 1167-1174, 1990.

ELSAYED, A. I.; RAFUDEEN, M. S.; GOLLDACK, D. Physiological aspects of raffinose family oligosaccharides in plants: protection against abiotic stress. **Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2014.

ERIKSSON, S. et al. Membrane-induced folding of the plant-stress protein Lti30. **Plant physiology**, v. 171, n. 1, p. 932- 943, 2016.

FARIA, J. M. R. et al. Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 418, p. 2119-2130, 2005.

FARRANT, J. M. et al. The role of plant growth regulators in the development and germination of the desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina*. **Seed Science Research**, v. 3, n. 1, p. 55-63, 1993.

FARRANT, J. M. et al. Wheat seedlings as a model to understand desiccation tolerance and sensitivity. **Physiology Plant**. v. 120, n.4, p. 563-574, 2004.

FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

GASULLA, F. et al. The role of lipid metabolism in the acquisition of desiccation tolerance in *Craterostigma plantagineum*: a comparative approach. **Plant Journal**. v. 75, n. 5, p. 726-741, 2013. Doi: 10.1111/tpj.12241

GOJŁO, E. et al. The acquisition of desiccation tolerance in developing *Vicia hirsuta* seeds coincides with an increase in galactinol synthase expression and soluble α -d-galactosides accumulation. **Journal of plant physiology**, v. 184, n.1, p. 37-48, 2015.

GRABHERR, M. G. et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. **Nature Biotechnology**, v. 29, n. 7, p. 644-652, 2011.

HARADA, J. J. Role of Arabidopsis LEAFY COTYLEDON genes in seed development. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 4, p. 405-409, 2001.

HARB, A. et al. Molecular and physiological analysis of drought stress in Arabidopsis reveals early responses leading to acclimation in plant growth. **Plant physiology**. v.154, n. 1, p. 1254-1271, 2010.

HE, D.; HAN, C.; YANG, P. Gene expression profile changes in germinating rice. **Journal of integrative plant biology**, v. 53, n. 10, p. 835-844, 2011.

- HINCHA, D. K. et al. The preservation of liposomes by raffinose family oligosaccharides during drying is mediated by effects on fusion and lipid phase transitions. **BBA-Biomembranes**, v. 1612, n. 2, p. 172-177, 2003.
- HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. IPGRI Technical Bulletin No. 1 (J.M.M. Engels & J. Tool, vol.eds.) International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Itália, 1996.
- HU, H.; XIONG, L. Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, n. 1, p. 715-741, 2014.
- INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 377-403, 1996.
- ITO, Y. et al. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice. **Plant Cell Physiology**, v. 47, p. 141-153, 2006.
- JIA, F. et al. Overexpression of Late Embryogenesis Abundant 14 enhances Arabidopsis salt stress tolerance. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 454, n. 4, p. 505-511, 2014.
- KANNO, Y. et al. Comprehensive hormone profiling in developing Arabidopsis seeds: examination of the site of ABA biosynthesis, ABA transport and hormone interactions. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 12, p. 1988-2001, 2010.
- KASUGA, M. et al. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. **Nature biotechnology**, v. 17, p. 287-291, 1999.
- KEITH, K. et al. fusca3: A heterochronic mutation affecting late embryo development in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 6, p. 589-600, 1994.
- KELLY, A. A. et al. Seed storage oil mobilization is important but not essential for germination or seedling establishment in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 157, p. 866-875, 2011.
- LEPRINCE, O. et al. Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germinating radicles. **Plant Physiology**, v. 122, p. 597-608, 2000.
- LEPRINCE, O. et al. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, v. 3, p. 231-246, 1993.

LEPRINCE, O. et al. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, v. 116, p. 573-580, 1990b.

LEPRINCE, O. et al. The role of sugars and hexose phosphorylation in regulating the re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Cucumis sativa* and *Medicago truncatula*. **Physiologia Plantarum**, v. 122, n. 2, p. 200-209, 2004.

LEPRINCE, O.; BRONCHART, R.; DELTOUR, R. Changes in starch and soluble sugars in relation to the acquisition of desiccation tolerance during maturation of *Brassica campestris* seed. **Plant, Cell and Environment**, v. 13, p. 539-546, 1990a.

LI, B.; DEWEY, C. N. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. **BMC Bioinformatics**, v. 12, p. 323, 2011.

LIU, J. J. J., et al., Galactinol synthase (GS): increased enzyme activity and levels of mRNA due to cold and desiccation. **Plant Science** v. 134, n. 1, p. 11-20, 1998.

LITTS, J. C. et al. Nucleotide sequence of the rice (*Oryza sativa*) Em protein gene (Emp1). **Plant molecular biology**, v. 19, n. 2, p. 335-337, 1992.

LIVACK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. **Methods**, v. 25, n. 1, p. 402-408, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. v.2, 2 ed. Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2 ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. v. 2, 352 p.

LOVE, M. I.; HUBER, W., ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, v. 15, Doi: 10.1186/s13059-014-0550-8, 2014.

MAIA, J. et al. Absciscic acid (ABA) sensitivity regulates desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis* seeds. **New Phytologist**, v. 203, n. 1, p. 81-93, 2014.

MAIA, J. et al. The Re-Establishment of Desiccation Tolerance in Germinated *Arabidopsis thaliana* Seeds and Its Associated Transcriptome. **PlosOne**, v. 6, n. 12, 2011.

MARSHALL, O. J. PerlPrimer: cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. **Bioinformatics**, v. 20, n. 15, p. 2471-2472, 2004.

MARUYAMA, K. et al. Integrated analysis of the effects of cold and dehydration on rice metabolites, phytohormones, and gene transcripts. **Plant Physiology**. v. 164, p. 1759-1771, 2014.

MARUYAMA, K.; TODAKA, D.; MIZOI, J. et al. Identification of cis-acting promoter elements in cold- and dehydration-induced transcriptional pathways in Arabidopsis, rice, and soybean. **DNA Research**, v. 19, p. 37-49, 2012.

MEURS, C. et al. Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v. 98, p. 1484-1493, 1992.

NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. The transcriptional regulatory network in the drought response and its cross talking abiotic stress responses including drought, cold, and heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, 170, 2014.

NEDEVA, D; NIKOLOVA. A desiccation tolerance in developing seeds. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 23, p. 100-113, 1997.

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

OLIVER, M. J.; TUBA, Z.; MISHLER, B. D. The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. **Plant Ecology**, v. 151, n. 1, p. 85-100, 2000.

PAMMENTER, N. W. et al. Why do stored hydrated recalcitrant seeds die? **Seed Science Research**, v. 4, p. 187-191, 1994.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, v. 9, p. 13-37, 1999.

PANIKULANGARA, T. J. et al. Galactinol synthase1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 136, p. 3148-3158, 2004.

PARCY, F. et al. Regulation of gene expression programs during Arabidopsis seed development: roles of the ABI3 locus and of endogenous abscisic acid. **The Plant Cell**, v. 6, p. 1567-1582, 1994.

PASSOS, F. B. et al. Nurse plant effect of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. in area of Brazilian Savanna undergoing a process of restoration. **Brazilian Journal of Botany**, v. 37, n. 3, p. 251-259, 2014.

PEREIRA, A. P. A., et al. A comprehensive characterization of *Solanum lycocarpum* St. Hill and *Solanum oocarpum* Sendtn: Chemical composition and antioxidant properties. **Food Research International**. 2018.

PINTO, L. V. et al. Mechanism and control of *Solanum lycocarpum* seed germination. **Annals of Botany**, v. 100, n. 6, p. 1175-1187. 2007.

RATAJCZAK, E.; DIETZ, K. J.; KALEMBA, E. M. The Occurrence of Peroxiredoxins and changes in redox State in *Acer platanoides* and *Acer pseudoplatanus* during seed development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 166, n. 1, p. 1-17, 2018.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v.1, p. 499-514, 1973.

SAHSAH, Y. et al. Enzymatic degradation of polar lipids in *Vigna unguiculata* leaves and influence of drought stress. **Physiology Plant**. v. 104, p. 577–586, 1998.

SAKUMA, Y. et al. Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor, DREB2A, involved in drought-responsive gene expression. **Plant Cell**, v. 18, p. 1292-1309, 2006.

SARAVITZ, D. M.; PHARR, D. M.; CARTER, T. E. Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes. **Plant Physiology**, 83(1), 185-189, 1987.

SENGUPTA, S. et al. Significance of galactinol and raffinose family oligosaccharide synthesis in plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, 656, 2015.

SEOK, H. Y. et al. AtC3H17, a non-tandem CCCH zinc finger protein, functions as a nuclear transcriptional activator and has pleiotropic effects on vegetative development, flowering and seed development in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 3, p. 603-615, 2016.

SHARMA, R., et al. Recent advances in dissecting stress-regulatory crosstalk in rice. **Molecular Plant**, v. 6, p. 250-260, 2013.

SHIMADA T. L. et al. A novel role for oleosins in freezing tolerance of oilseeds in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 55, p. 798-809, 2008.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiology**, v. 115, p. 327-334, 1997.

SILOTO R. M. et al. The accumulation of oleosins determines the size of seed oil bodies in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 18, p. 1961-1974, 2006.

SILVA, J. A. et al. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 166 p.
SPRENGER, N.; KELLER, F. Allocation of raffinose family oligosaccharides to transport and storage pools in *Ajuga reptans*: the roles of two distinct galactinol synthases. **The Plant Journal**. v. 21, p. 249-258, 2000.

SUN, W. Q. et al. The role of sugar, vitrification and membrane phase-transition in seed desiccation tolerance. **Physiology Plant**. v. 90, p. 621-628, 1994.

TIAN, X. et al. Transcriptomic profiling reveals metabolic and regulatory pathways in the desiccation tolerance of Mungbean (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek). **Frontiers in plant science**, v. 7, 1921, 2016.

TODAKA, D.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, 2015.

TORRES-FRANKLIN, M. L. et al. Drought stress and rehydration affect the balance between MGDG and DGDG synthesis in cowpea leaves. **Physiology Plant**. v. 131, p. 201-210, 2007.

TUNNACLIFFE, A.; WISE, M. J. The continuing conundrum of the LEA proteins. **Naturwissenschaften**, v. 94, p. 791-812, 2007.

VAN BUREN, R. et al. Seed desiccation mechanisms co-opted for vegetative desiccation in the resurrection grass *Oropetium thomaeum*. **Plant, cell & environment**, v. 40, n. 10, p. 2292-2306, 2017.

VERDIER, J.; THOMPSON, R. D. Transcriptional regulation of storage protein synthesis during dicotyledon seed filling. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, n. 9, p. 1263-1271, 2008.

VERSLUES, P. E; JUENGER, T. E. Drought, metabolites, and Arabidopsis natural variation: a promising combination for understanding adaptation to water-limited environments. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p. 240-245, 2011.

VERTUCCI C. W; FARRANT J. M. **Acquisition and loss of desiccation tolerance**. In: Kigel J, Galili G (eds) Seed Development and Germination. Marcel Dekker Inc, New York, p. 237–271, 1995.

VIDAL, M. C.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; CÂMARA, H. H. L. L. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (lobeira) em casa de vegetação. **Acta Botanica Brasilica**. v. 13, n. 3, p. 271-274, 1999.

XIANG, S.; ZHANG, Q.; TANG, Q.; ZHENG, F.; WU, J.; YANG, L.; HANN, S. S. Activation of AMPK α mediates additive effects of solamargine and metformin on suppressing MUC1 expression in castration-resistant prostate cancer cells. **Scientific reports**, v. 6, n. 36721, p. 1-14, 2016.

WEBB, M. S.; GREEN, B. R. Biochemical and biophysical properties of thylakoid acyl lipids. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1060, p. 133–158, 1991.

WENG, J. K.; YE, M.; LI, B.; NOEL, J. P. Co-evolution of hormone metabolism and signaling networks expands plant adaptive plasticity. **Cell**, v. 166, n. 4, p. 881-893, 2016.

WOLKERS, W. F. et al. Changed properties of the cytoplasmic matrix associated with desiccation tolerance of dried carrot somatic embryos. An in situ fourier transform infrared spectroscopic study. **Plant Physiology**, v. 120, p. 153-163, 1999.

WOLKERS, W. F. et al. Properties of proteins and the glassy matrix in maturation-defective mutant seeds of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, v. 16, p. 133-143, 1998.

YOSHIDA, T.; MOGAMI, J.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. ABA-dependent and ABA-independent signaling in response to osmotic stress in plants. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 21, p. 133-139, 2014.