

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Valéria de Oliveira Mota

**Alterações fisiológicas em sementes durante o armazenamento e
estabelecimento de plântulas de pequi**

Montes Claros
2021

Valeria de Oliveira Mota

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES DURANTE O ARMAZENAMENTO
E ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE PEQUIZEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Paulo Sérgio Nascimento Lopes

Coorientador: Leonardo Monteiro Ribeiro

Montes Claros
2021

Mota, Valeria de Oliveira.

M917a
2021 Alterações fisiológicas em sementes durante o armazenamento e estabelecimento de plântulas de pequi [manuscrito] / Valéria de Oliveira Mota. Montes Claros, 2021.
77 f.: il.

Tese (doutorado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Paulo Sérgio Nascimento Lopes

Banca examinadora: Leonardo Monteiro Ribeiro, Ailton Gonçalves Rodrigues Junior, Delacy da Silva Brandão Junior, Hellen Cássia Mazzotini dos Santos, Joyce Nascimento e Souza.

Inclui referências: f. 23-30; 47-51; 72-77.

1. Sementes -- Armazenamento -- Teses. 2. Sementes -- Deterioração -- Teses. 3. Germinação -- Teses. 4. Hipocótilo -- Teses. 5. Pequi -- Morfologia -- Teses. 6. Antioxidantes -- Teses. 7. Genética vegetal -- Teses. 8. Lipídios -- Peroxidação -- Teses. 9. Plantas -- Desidratação -- Teses. 10. Plântulas -- Teses. 11. Irrigação -- Teses. I. Lopes, Paulo Sérgio Nascimento. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 582.81:631.53

ATA DE DEFESA DE TESE

Aos 17 dias do mês de dezembro de 2021, às 09:00 horas, sob a Presidência do Professor Paulo Sérgio Nascimento Lopes, D. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores Leonardo Monteiro Ribeiro, D. Sc. (Coorientador - Unimontes), Ailton Gonçalves Rodrigues Júnior, D. Sc. (UFU), Hellen Cássia Mazzotini dos Santos, D. Sc. (Unimontes), Joyce Nascimento e Souza, D. SC. (Unimontes) e Delacyr da Silva Brandão Júnior, D. SC. (UFMG/ICA), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de tese de **Valéria de Oliveira Pinto**, aluna do Curso de Doutorado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de tese intitulada: “**Alterações fisiológicas em sementes durante o armazenamento e estabelecimento de plântulas de pequi**”, sendo a aluna considerada (aprovada/reprovada) **Aprovada**. E, para constar, eu, Professor Paulo Sérgio Nascimento Lopes, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do **ARTIGO 68** do regulamento do Curso de Doutorado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 17 de dezembro de 2021.



Paulo Sérgio Nascimento Lopes
 Orientador



Leonardo Monteiro Ribeiro
 Coorientador



Ailton Gonçalves Rodrigues Jr
 Membro



Hellen Cássia M. dos Santos
 Membro



Joyce Nascimento e Souza
 Membro



Delacyr da Silva Brandão Jr
 Membro

À minha mãe, Leocádia Bernarda de Oliveira,
ao meu amado esposo Mauro Franco e ao meu
filho Henry Franco, por todo o amor, apoio e
incentivo.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora, pela vida e por iluminar meu caminho, concedendo-me sabedoria e força para seguir sempre em frente. Obrigada por me permitir realizar tantos sonhos.

À minha mãe, Leocádia Bernarda de Oliveira, minha referência e melhor amiga, que me incentiva e está comigo em todos os momentos. Obrigada por todo amor e cuidado de sempre.

Ao meu esposo Mauro, por estar o tempo todo ao meu lado. Obrigada por todo o amor, carinho, paciência, companheirismo, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Ao meu príncipe, Henry, por todo amor incondicional.

A toda a minha família (avó, tios, tias, primos e primas) pelo apoio, torcida e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu orientador, o professor Dr. Paulo Sérgio, pela orientação, ensinamento, apoio, competência, amizade e dedicação ao trabalho. Obrigada por confiar na minha capacidade.

Ao meu coorientador, o professor Dr. Leonardo Monteiro, pela disponibilidade, apoio, competência e valiosas contribuições neste trabalho.

Aos Professores do ICA, pela dedicação, competência e todo o conhecimento compartilhado.

Aos colegas do GEFEN: Armando, Bruno, Carlos, Cristina, Danilo, Fabio, Felipe, Fernanda, Gilson, Iara, Janina, Juliana, Monielly, Patricia, Samuel, Thays, Tarcísia, Tiago e Wily, por terem me ajudado na condução dos experimentos e tornado o dia a dia da pós-graduação tão prazerosos! Foi extremamente enriquecedor conhecer e conviver com cada um de vocês.

À Professora Dr^a. Maria Olívia, Professora Dr^a. Daiane Dias e Gabriela Figueiredo, do Laboratório de Anatomia Vegetal da UNIMONTES, pelas análises e contribuições.

Aos amigos Bruno Guilherme e Armando Goncalves, pelos trabalhos e disciplinas realizados em conjunto e, principalmente, pela convivência harmoniosa, apoio constante e amizade.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Ailton Rodrigues, Dr. Delacir Silva, Dra. Hellen Cássia, Dra. Joyce Nascimento, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta tese.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Instituto de Ciências Agrárias e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal pelo nível de excelência no ensino, infraestrutura e oportunidade de realizar mais um sonho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de pesquisa, e à FAPEMIG, pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, de todo o meu coração, muito obrigada!

“Consagre ao Senhor tudo o que faz, e os
seus planos serão bem-sucedidos”.

Provérbios 16:3

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações fisiológicas em sementes durante o armazenamento e o uso da irrigação sobre o estabelecimento e crescimento de plântulas de pequi. No primeiro trabalho desenvolvido, pirênios (sementes envolvidas pelo endocarpo) foram armazenados em condição ambiental e avaliados ao longo de um ano. Entre 40 e 60 dias de armazenamento, ocorreu redução nos teores de água e aumento do estresse oxidativo, o que levou à redução na síntese e no acúmulo de ABA e aliviação da dormência. Após esse período, limitações no controle do estresse oxidativo causou gradual redução na síntese e acúmulo de ABA e perda da funcionalidade das membranas, o que resultou na deterioração das sementes. No segundo trabalho desenvolvido, avaliou-se o efeito da disponibilidade hídrica (por meio de irrigação) e do tempo (seis avaliações), ao longo de um ano, sobre a germinação de pirênios, sobrevivência e morfologia das plântulas e anatomia do hipocótilo (estrutura caulinar subterrânea). A irrigação proporcionou maior germinabilidade (55%) que a condição de sequeiro (44%). As plantas irrigadas apresentaram comprimento e diâmetro do caule, bem como número de folhas e área foliar superiores aos não irrigados. A irrigação também favoreceu o desenvolvimento radicular nas últimas épocas de avaliação. O hipocótilo foi persistente, teve crescimento secundário influenciado positivamente pela disponibilidade hídrica. As plântulas e plantas jovens de *C. brasiliense* foram notavelmente resistentes à seca. No entanto, o uso de irrigação favoreceu o seu estabelecimento e desenvolvimento.

Palavras-chave: armazenamento de sementes; deterioração; germinação; hipocótilo; morfologia de plântulas; sistema antioxidante.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the physiological changes in seeds during storage and the use of irrigation on the establishment and growth of pequi tree seedlings. In the first study, pyrenes (seeds involved by the endocarp) were stored in an environmental condition and evaluated over a year. Between 40 and 60 days of storage, there was reduction in water content and an increase in oxidative stress, which led to reduction in synthesis and ABA accumulation and numbness relief. After this period, limitations in the control of oxidative stress caused a gradual reduction in the synthesis and accumulation of ABA and loss of membrane functionality, which resulted in seed deterioration. In the second study, the effect of water availability (through irrigation) and time (six evaluations), over a year, on pyrene germination, seedling survival and morphology and hypocotyl anatomy (subterranean stem structure) was evaluated. Irrigation provided greater germinability (55%) than dryland conditions (44%). Irrigated plants had greater stem length and diameter as well as number of leaves and leaf area than non-irrigated plants. Irrigation also favored root development in the last evaluation periods. Hypocotyl was persistent, with secondary growth positively influenced by water availability. Seedlings and young plants of *C. brasiliense* were remarkably resistant to drought. However, the use of irrigation favored their establishment and development.

Keywords: seed storage; deterioration; germination; hypocotyl; seedling morphology; antioxidant system.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Ácido abscísico
ABA1	ABA deficient 1
ACT2	Actin 2
APX	Ascorbato peroxidase
CAT	Catalase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Etilenodiamino tetra-acético
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GA ₃	Ácido giberélico
GAPC2	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IVG	Índice de velocidade de germinação
MDA	Malondialdeído
NBT	Cloreto de tetrazólio-nitroazul
NCED4	Nine-cis-epoxycarotenoiddioxygenase 4
NCED9	Nine-cis-epoxycarotenoiddioxygenase 9
PCR	proteína C-reativa
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
RNA	ácido ribonucleico
SOD	Superóxido dismutase
TCA	Ácido tricloroacético

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	11
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Dormência	15
3.2 Tolerância à dessecação de sementes	17
3.3 Longevidade	19
3.4 Germinação, emergência e estabelecimento de plântulas a campo	20
3.5 Referências.....	22
4 ARTIGO	30
4.1 Introdução.....	32
4.2 Métodos	33
4.3 Resultados.....	37
4.5 Discussão	42
4.6 Conclusões.....	45
4.7 Literatura Citada	46
5 ARTIGO	51
5.1 Introdução.....	54
5.2 Métodos	55
6. Resultados.....	58
7 Discussão	68
8. Conclusões	71
REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO GERAL

O pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess) é uma planta arbórea, pertencente à família *Caryocaraceae*. Seus frutos são utilizados em larga escala na alimentação humana e na produção de fármacos e de cosméticos, uma vez que possuem alto valor energético e nutricional, com propriedades antioxidantes e aroma característico (Reis e Schmiele, 2019). Isso leva a uma demanda intensa por frutos, gerando renda e emprego para toda uma cadeia produtiva, composta por coletores de frutos, atravessadores, indústria de processamento e setores de comercialização de produtos (Oliveira e Scariot, 2010; Oliveira, 2017). Apesar do uso múltiplo e da importância econômica, o pequi ainda é quase totalmente explorado por meio do extrativismo, que é uma atividade de baixa eficiência, que, junto com a expansão da fronteira agrícola no Cerrado, coloca em risco a sobrevivência da espécie (Giraldo e Scariot, 2015). Dessa forma, estudos sobre domesticação do pequi são necessários, principalmente aqueles relativos à sua propagação, em função das dificuldades de se obter elevadas taxas de germinação e do estabelecimento de plântulas a campo. Essas dificuldades têm limitado a implantação de pomares comerciais e/ou recuperação de áreas degradadas com pequi.

A propagação do pequi ocorre a partir do pirênio, que é a unidade de dispersão da espécie, composta pelo endocarpo e pela semente (Rodrigues *et al.*, 2019). As sementes apresentam forte dormência, associada ao endocarpo rígido, que impede a expansão do embrião, devido à presença de elevada quantidade de ácido abscísico (ABA) nessa estrutura (Souza *et al.*, 2017; Larcher, 2006; Rodrigues *et al.*, 2019). Uma forma de superar essa dormência é o armazenamento das sementes (Souza *et al.*, 2017; Ferraz *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019), além de ser um importante método para conservação e reprodução da espécie (Sosinski Junior *et al.*, 2019). No entanto, o armazenamento prolongado das sementes pode causar perda da capacidade germinativa ou sua inviabilidade (Chhabra, *et al.*, 2019). A qualidade fisiológica e a

viabilidade da semente durante os processos de armazenamento, dependem, principalmente, da capacidade das sementes de resistir às alterações metabólicas degenerativas (Thirusendura e Saraswathy, 2018; Waterworth *et al.*, 2015). Estudos relacionados às alterações fisiológicas durante o armazenamento das sementes são fundamentais para entender o processo superação da dormência, bem como estabelecer a viabilidade e deterioração dessas ao longo do tempo.

Outro fator que limita a propagação de pequizeiro é o estabelecimento de plântulas na condição de clima sazonal do Cerrado, especialmente durante os períodos de déficit hídrico e temperaturas mais amenas. Esse período interfere diretamente na emergência, na sobrevivência e no crescimento de plantas jovens (Leite *et al.*, 2012; Gucci, *et al.*, 2019). Algumas plantas do Cerrado conseguem sobreviver às condições adversas da estação seca, apesar de reduzirem drasticamente seu metabolismo e crescimento, apresentando mecanismos importantes de tolerância ao déficit hídrico (Palhares *et al.*, 2010; Fonseca *et al.*, 2017; Gonçalves, 2019). Ao contrário, durante a estação úmida, as plântulas têm um acelerado crescimento, com ganhos significativos na matéria seca (Kanegae *et al.*, 2000; Vieira e Scariot, 2006; Dalmolin, *et al.*, 2015).

No pequizeiro, o hipocótilo permanece após o desenvolvimento da plântula. A morfoanatomia e sua função são pouco conhecidas para a espécie. O hipocótilo é um órgão armazenador de reserva (Rego *et al.*, 2010), onde ocorrem várias alterações anatômicas, dependendo da oscilação dos fatores climáticos, como precipitação e temperatura. As mudanças sazonais do clima, influenciam diretamente o armazenamento e a mobilização de nutrientes e substâncias nas estruturas de reservas, bem como o crescimento e estabelecimento da planta (Taiz e Zeiger, 2004; Larcher, 2006; Bewley *et al.*, 2013; De Almeida *et al.*, 2017). Dessa forma, estudos sobre a morfoanatomia e o crescimento do hipocótilo ao longo das estações no Cerrado podem contribuir para explicar as estratégias de tolerância à seca.

Considerando a importância econômica, cultural e ecológica do *C. brasiliense*, pesquisas inerentes à espécie são relevantes para entender processo de reprodução. Nesse contexto, fazem-se necessários estudos que visem esclarecer as principais alterações fisiológicas no período de armazenamento das sementes e sua quebra de dormência, além do comportamento morfoanatômico de plântulas de pequiheiro sob estresse hídrico, contribuindo para a produção de mudas de qualidade e adoção de métodos que assegurem um maior crescimento e sobrevivência de plantas nas condições do Cerrado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho possui o objetivo geral de avaliar as alterações fisiológicas em sementes de pequi durante o armazenamento, além de verificar o comportamento e a morfologia de plântulas em condições naturais e sob irrigação.

2.2 Objetivos Específicos

Esta pesquisa também apresenta os seguintes objetivos específicos:

- Verificar capacidade germinativa e a deterioração das sementes ao longo do armazenamento de sementes de pequi;
- Avaliar as alterações na atividade enzimática, teor de ácido abscísico, e expressão gênica relacionada à biossíntese do ABA, durante o armazenamento das sementes;
- Avaliar a influência da irrigação sobre a germinação, emergência, sobrevivência e crescimento de plântulas de pequi ao longo das estações seca e úmida;
- Caracterizar a morfoanatomia e o crescimento do hipocótilo de plântulas de pequi na condição de sequeiro e irrigadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Dormência

A dormência é uma fase de repouso, em que as sementes maduras e viáveis são incapazes de germinar em determinado período, mesmo possuindo todas as condições ambientais favoráveis para iniciar o processo germinativo (Baskin e Baskin, 2014; Bareke, 2018). A dormência é considerada uma estratégia importante para as espécies sobreviverem por longos períodos de tempo no solo. Vários mecanismos são utilizados para impedir a germinação, dentre os quais encontram-se a impermeabilidade do tegumento à água e a gases, a dureza elevada das estruturas no entorno da semente e a incapacidade do embrião de crescer e romper os tecidos adjacentes, além do seu subdesenvolvimento (Vázquez-Yanes e Orozco-Segovia, 1993; Ferreira e Borghetti, 2004; Baskin; Baskin, 2014). Dessa forma, a dormência é uma condição adaptativa, que permite que a espécie sobreviva em situações de estresse e que a germinação ocorra em condições favoráveis, possibilitando o estabelecimento de plântulas no campo (Costa *et al.* 2010; Bewley *et al.*, 2013; Footitt *et. al.*, 2011). No entanto, a dormência é prejudicial para o desempenho das práticas de viveiro, uma vez que se deseja que as sementes germinem de forma homogênea em curto espaço de tempo, viabilizando a produção de mudas em larga escala (Dutra *et al.*, 2007).

A dormência física é caracterizada pelo bloqueio da germinação imposta pelos tegumentos da semente, restringindo a embebição, sendo detectada em número reduzido de espécies (Ferreira e Borghetti, 2004). Já a dormência fisiológica é frequentemente encontrada em espécies do bioma cerrado e se deve a mecanismos fisiológicos de inibição da germinação, devido ao balanço hormonal inadequado, relacionada à incapacidade do embrião em romper as restrições impostas pelos envoltórios que circundam o mesmo (Koorneef *et al.*, 2002; Baskin e Baskin, 2014).

Essa classe de dormência pode ser fragmentada em três níveis distintos: profunda, intermediária e não profunda. A dormência profunda é caracterizada pela incapacidade do embrião isolado de produzir uma plântula normal, enquanto, nos níveis intermediários e na não profunda, a excisão do embrião é suficiente para fazê-lo desenvolver-se e produzir uma plântula normal (Cardoso, 2009; Baskin e Baskin, 2004; Tuan *et al.*, 2019).

A presença da dormência e a promoção da germinação estão ligadas ao balanço entre ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs) (Baskin e Baskin, 2014). O ABA tem como principais funções induzir a dormência primária e inibir a germinação precoce das sementes (Nambara *et al.* 2010), atuando como um regulador negativo da germinação, através da inibição da síntese ou da atividade das enzimas que atuam na degradação da parede celular ou por impedir a expansão da radícula (Kucera *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Finch-Savage Footitt, 2012; Miransari e Smith, 2014). Já as giberelinas, exercem papel chave na germinação de sementes, envolvidas tanto na superação da dormência como no controle da hidrólise de reservas (Taiz e Zeiger, 2013). Assim, as giberelinas agem tanto na quebra da dormência, por atuar no silenciamento de genes envolvidos na manutenção da dormência, como no desenvolvimento contínuo do alongamento do embrião, por promover a síntese de enzimas envolvidas na mobilização de reservas (Koorneet *et al.*, 2002; Bewley, 1997).

A dormência em *C. brasiliense* deve-se principalmente a impedimentos físicos, causados pelo endocarpo, e fisiológicos, decorrentes da presença de inibidores químicos no embrião e pela incapacidade deste em mobilizar reservas da semente (Dombroski *et al.*, 1998). Em sementes do pequizeiro a dormência demonstra ser fisiológica não profunda (Baskin e Baskin, 2004), pois a aplicação de giberelinas (GA₃) e armazenamento de pirênios contribuem para superar a dormência e promover o processo de germinação (Mendes, 2015; Souza *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019). Para que a germinação ocorra é necessário que ocorra um desequilíbrio hormonal,

favorável a giberelina, uma vez que o ABA induz e mantém as sementes no estado dormente, enquanto as GAs promovem e neutralizam o efeito do ABA (Morais Júnior, 2015; Kucera *et al.*, 2005; Muller *et al.*, 2006; Rosental *et al.*, 2014).

3.2 Tolerância à dessecação de sementes

As alterações que ocorrem durante o processo de dessecação e armazenamento das sementes interferem diretamente na preservação e conservação da qualidade das sementes. A tolerância à dessecação é adquirida de acordo com a perda de água das sementes, ocorrendo, durante esse processo, diversas mudanças bioquímicas nas células das sementes, com a finalidade de repará-las para resistir à dessecação de seus tecidos (Faria *et al.*, 2004; Vertucci e Farrant, 2017). A capacidade fisiológica das sementes de tolerar a dessecação, no período pós-colheita, é variável entre as espécies (Fonseca e Freire, 2003), podendo as sementes ser classificadas em ortodoxas, recalcitrantes ou intermediárias, de acordo com o nível de tolerância sob diferentes condições de armazenamento.

As sementes ortodoxas mantêm por mais tempo a qualidade fisiológica quando armazenadas com baixos teores de água (em torno de 5%) e sob baixas temperaturas, sendo tolerante à dessecação (Romero-Rodríguez, *et al.*, 2018). As recalcitrantes caracterizam-se por não tolerarem baixo teor de água, sendo dispersas com elevada umidade, entre 30% e 70%. Quando o conteúdo de água, na semente recalcitrante, é reduzido a um nível considerado crítico, desencadeando alguns processos deterioráveis, como a desnaturação de proteínas, alterações na atividade das enzimas peroxidases e danos no sistema de membranas, resultando na completa perda de sua viabilidade (Roberts, 1973; Nautiyal e Purohit, 1985; Costa, 2009). Já as sementes com comportamento intermediário não suportam baixas temperaturas, porém toleram a dessecação da umidade em torno de 10% a 13% (Fonseca e Freire, 2003), tendo sua

viabilidade reduzida a graus de unidade inferiores.

A tolerância à dessecação envolve a interação de ajustes metabólicos e estruturais, a qual permite que as células resistam a perdas consideráveis de água sem a ocorrência de prejuízos (Bonjovani e Barbedo, 2008). Para isso é necessário que se tenha um amplo sistema de proteção e desintoxicação celular, para que a semente sobreviva no estado seco (Rajjou e Debeaujon, 2008). O ABA (ácido abscísico) apresenta relações direta com a tolerância à dessecação, pois a síntese deste hormônio está ligada a expressão de genes relacionados à aquisição da tolerância à dessecação, induzindo, assim, a síntese da LEA (Barbedo e Marcos Filho, 1998; Buitink *et al.*, 2003; Bartels, 2005; Bewley *et al.*, 2013). Tomando-se como referência as sementes ortodoxas, verifica-se que, após a histodiferenciação, as células destas sementes completam os vacúolos com proteínas, acumulam açúcares, alteram a composição da membrana, produzem proteínas LEA (“*late-embryogenesis-abundant*”) e entram no estado vítreo, conferindo, assim, tolerância à desidratação, protegendo os componentes celulares da falta de água, promovendo ajustamento osmótico ou substituindo a água (Bonjovani, 2011; Han *et al.*, 1997).

A dessecação em sementes provoca estresse oxidativo, formando assim espécies reativas de oxigênio (EROS). Para lidar com a formação de EROS e o estresse oxidativo, a célula utiliza compostos antioxidantes (Nambara *et al.*, 2010; Pammenter e Berjak, 1999). Os sistemas antioxidantes são constituídos de enzimas especializadas em remover espécies reativas de oxigênio, como a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 , a catalase (CAT) e a ascorbatoperoxidase (APX), que podem quebrar o H_2O_2 em H_2O e O_2 (Carneiro *et al.*, 2011). Essas enzimas atuam principalmente durante a embebição, quando o metabolismo das sementes é reativado (Pammenter e Berjak, 2000).

3.3 Longevidade

A longevidade se refere ao período máximo em que as sementes permanecem viáveis, em determinada condição de armazenamento, podendo ser curto (6 a 12 meses), médio (1 a 3 anos) e longo prazo (5 a 20 anos ou mais) (Villela, *et al.*, 2009; Kannababu, *et al.*, 2020). Os principais fatores ambientais que interferem na longevidade das sementes são temperatura e umidade do ambiente (Bewley *et al.*, 2013). As condições de armazenamento das sementes podem causar atraso na germinação e gerar plântulas pouco vigorosas, além de levar à perda total da capacidade germinativa (Bewley e Black, 2012; Sano *et al.*, 2015).

A longevidade tem a capacidade de estabilizar o sistema biológico das sementes, por longos períodos, através da suspensão da atividade metabólica, por meio do estado vítreo, que diminui significativamente as reações causadas pelo envelhecimento (Silva *et al.*, 2011; Chatelain *et al.*, 2012). Diferentes espécies de sementes têm variadas taxas de deterioração, mas o nível em que a deterioração ocorre entre e dentro delas pode variar largamente em razão de fatores genéticos e das condições ambientais em que as sementes foram produzidas, secadas e armazenadas (Bewley *et al.*, 2006). Spera *et al.* (2001), avaliando a viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*), verificou que sementes armazenadas a 20°C mantiveram viabilidade no nível de 90%, enquanto sementes armazenadas a 30°C apresentaram perda total da viabilidade. A perda da viabilidade das sementes a 30°C pode ser explicada pelo fato destas apresentarem maior atividade metabólica do embrião, e maior perda de água da semente, com consequente desidratação do embrião (Popinigis, 1977). Desta forma, as sementes de buriti mantêm a viabilidade quando armazenadas no escuro por um período de quatro meses e meio, em sacos de plástico selados, à temperatura de 20°C (Spera *et al.*, 2001).

Sementes de espécies de cerrado podem ficar armazenadas no solo por 10 a 12 meses sem germinar, atribuindo essa longevidade ao fato das sementes apresentarem um tegumento duro e impermeável, contribuindo para a manutenção dessas sementes nos bancos do solo (Sasaki *et al.*, 1999). Alguns estudos realizados com sementes de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) armazenadas, demonstram que a germinação é reduzida com o transcorrer dos dias de armazenamentos (Mendes, 2015; Sousa *et al.*, 2017). Oliveira (2002) observou a redução da capacidade germinativa, de 70% (sementes frescas) para 19% aos quatro meses de armazenamento.

3.4 Germinação, emergência e estabelecimento de plântulas a campo

O pequi apresenta germinação desuniforme e baixa taxa de emergência (Leão *et al.*, 2012; Bernardes, *et al.* 2008). As sementes apresentam dormência, e o período de emergência varia de um a seis meses, após o plantio (Santos *et al.*, 2013). Um dos principais fatores que impede a germinação e emergência são o impedimento mecânico do endocarpo e o balanço hormonal embrionário, caracterizado como dormência fisiológica. A presença de substâncias inibidoras, presentes no tegumento e sementes, como o ácido abscísico (ABA), pode inibir a germinação (Melo e Gonçalves, 2001; Rodrigues *et al.*, 2019). Diversos trabalhos, avaliando a germinação a partir dos pirênios de *C. brasiliense*, relatam que a baixa taxa de emergência de plântulas, está associada à dormência (Bernardes *et al.*, 2008; Dombroski *et al.*, 2010; Leão *et al.*, 2012; Mendes, 2015; Souza *et al.*, 2017). O tratamento hormonal com ácido giberélico (GA₃) nos pirênios ou sementes aumenta o percentual e a velocidade da germinação, bem como a emergência de plântulas (Bernardes *et al.*, 2008; Mendes, 2015; Sousa *et al.*, 2017). O plantio de pirênios armazenados por 30 dias e tratados com 125 mgL⁻¹ de GA₃, é um dos métodos eficientes para superar a dormência e aumentar as taxas de emergência (Mendes, 2015).

A utilização de sementes de boa qualidade fisiológica e fundamental para processo germinativo e emergência de plântulas no campo. Sementes de vigor elevado formam plântulas com maiores taxa de crescimento inicial, e sementes de baixo vigor apresentam crescimento lento, acarretando maior tempo e desuniformidade na emergência a campo (Schuch *et al.*, 2000). O processo germinativo se inicia com a absorção de água e depende da mobilização das reservas embrionárias, tais como carboidratos, lipídios e proteínas, para que ocorra o crescimento e desenvolvimento das plântulas (Bewley *et al.*, 2013; Nonogaki *et al.*, 2010).

O crescimento do eixo da plântula, do hipocótilo e da raiz acelera após a germinação, resultando em intensas alterações na estrutura celular, na morfologia, na expressão genética e mobilização de reservas, que interferem no estabelecimento de plântulas (Bewley *et al.*, 2013; Soriano *et al.*, 2013). No período de estabelecimento, o vegetal depende da mobilização de reservas de carbono e nitrogênio para crescimento da plântula e desenvolvimento do aparato fotossintético (Tan-Wilson e Wilson, 2012; Bewley *et al.*, 2013). No crescimento inicial das plântulas, é importante o desenvolvimento das folhas para iniciar o estabelecimento da fotossíntese. O processo da fotossíntese depende da disponibilidade de luz e temperatura, que se inicia com utilização da luz solar, onde ocorre a entrada de CO₂ e a liberação de moléculas de água. Com a formação do aparato fotossintético, a planta é considerada estabelecida, uma vez que atingiu a fase autotrófica (Soriano *et al.*, 2013).

Em plantas do cerrado, o déficit hídrico é um dos fatores que interferem negativamente na emergência e estabelecimento de plântulas. A baixa disponibilidade hídrica pode causar redução do status hídrico, paralisação do crescimento e mortalidade da planta (Yagmur e Kayadan, 2008; He *et al.*, 2014). Para sobreviver sob variações edáficas e climáticas, as espécies nativas do cerrado desenvolveram um mecanismo que permite a sobrevivência sob condições ambientais adversas (Pajehú, 2018; Gonçalves,

2019). Um desses mecanismos está relacionado à morfologia, com as plantas desenvolvendo raízes pivotantes com elevado comprimento, possibilitando a exploração das camadas profundas do solo, onde há disponibilidade de água, mesmo na estação seca (Vilela *et al.*, 2008; Palhares *et al.*, 2010). Outra estratégia é a perda completa ou parcial das folhas durante o período seco (Franco *et al.*, 2005). O pequi desseca a parte aérea, permanecendo viva a parte radicular, e no período chuvoso, ocorre à brotação do caule e folhas (Mendes, 2015; Gonçalves, 2019). Além disso, em condições de déficit hídrico, pode ocorrer modificações no metabolismo de carboidratos solúveis, com o armazenamento de carboidratos não-estruturais, permitindo que a planta tenha taxas de crescimento mais baixa e maior condutância hidráulica por unidade de área foliar, levando a utilização mais eficiente da água, na estação de seca no Cerrado (Hoffmann e Franco, 2008; Souza *et al.*, 2005).

3.5 Referências

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.

BAREKE, T. Biology of seed development and germination physiology. **Adv. Plants Agric. Res**, v. 8, n. 4, p. 336-46, 2018.

BARTELS, D. Desiccation tolerance studied in resurrection plant *Caterostigma plantagineum*. **Integrative & Comparative Biology**, McLean, v. 45, p. 696-701, 2005.

BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. **Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination**. Academic Press, San Diego, 2014.

BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. **Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination**. Academic Press, San Diego, 2014.

BASKIN, J. M., & BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed science research**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004.

BERNARDES, T.G., NAVES, R.V., REZENDE, C.F.A., BORGES, J.D., CHAVES, L.J. Propagação sexuada do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) estimulada por ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.38, n.2, p.71-77, 2008.

BEWLEY JD, BRADFORD KJ, HILHORST HWM, NONOGAKI H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Springer, New York, 2013.

BEWLEY, J. D., BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: volume 2: viability, dormancy, and environmental control. **Springer Science & Business Media**, 2012.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M.; HOLMES, P. **The encyclopedia of seeds: science, technology and uses: technology and uses**. Wallingford: CABI, 2006. p. 138-142.

BEWLEY, J.D. Breaking down the walls: a role for endo betamananase in release from seed dormancy. **Trend in Plant Science**, v.2, p.139-144, 1997.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013.

BONJOVANI, M. R., BARBEDO, C. J. Recalcitrant seeds: intolerant to low temperatures? Recalcitrant embryos of *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD Penn., a tropical species, are tolerant to subzero temperature. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, n. 2, p. 345-356, 2008.

BONJOVANI, M.R. **Taxa respiratória em sementes recalcitrantes de *Inga vera* ssp. *affinis*** (DC.) T.D. Pennington, 2011. 124p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, 2011.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant hydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**. 48: 215–228, 2004.

CARDOSO, V. J. M. Conceito e classificação da dormência em sementes. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 619-631, 2009.

CARNEIRO, M.M.LC.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P.V.; TEXEIRA, S.B.; SOUSA, C.P.; BACARIN, M.A.; MORÃES, D.M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 4 p. 752 - 761, 2011.

CHATELAIN, E.; HUNDERTMARK, M.; LEPRINCE, O.; LE GALL, S.; SATOUR, P.; DELIGNY-PENNICK, S.; ROGNIAUX, H.; BUITINK, J. 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, pags. 1440–1455, 2012.

CHEN SY, CHIEN CT, CHUNG JD, YANG YS, KUO SR., Dormancy-break and germination in seeds of *Prunus campanulata* (Rosaceae): role of covering layers and changes in concentration of abscisic acid and gibberellin. **Seed Science Research** 17:21-32, 2007.

CHEN SY, KUO S, CHIEN CT., Roles of gibberellins and abscisic acid in dormancy and germination of red bayberry (*Myrcia rubra*) seeds. **Tree Physiology** 28:1431- 1439, 2008.

CHHABRA, R., & SINGH, T. Seed Aging, Storage and Deterioration: An Irresistible Physiological Phenomenon. **Agricultural Reviews**, v. 40, n. 3, p. 234-238, 2019.

COSTA, C.J., Armazenamento e conservação de sementes de espécies do cerrado. EMBRAPA CERRADO, Planaltina – DF, 2009.

COSTA, P. A., DA SILVA LIMA, A. L., ZANELLA, F., & DE FREITAS, H. Quebra de dormência em sementes de *Adenantha pavonina* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.1, p.83-88, 2010.

DALMOLIN, Â. C., DE ALMEIDA LOBO, F., VOURLITIS, G., SILVA, P. R., DALMAGRO, H. J., ANTUNES, M. Z., & ORTÍZ, C. E. R. Is the dry season an important driver of phenology and growth for two Brazilian savanna tree species with contrasting leaf habits?. **Plant Ecology**, v. 216, n. 3, p. 407-417, 2015.

DE ALMEIDA, L. V., FERRI, P. H., SERAPHIN, J. C., & DE MORAES, M. G. Seasonal changes of fructans in dimorphic roots of *Ichthyothere terminalis* (Spreng.) Blake (Asteraceae) growing in Cerrado. **Science of The Total Environment**, v. 598, p. 404-412, 2017.

DE MELO, J. T., & GONÇALVES, A. N. Inibidores de germinação em frutos e sementes de pequi. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2001.

DOMBROSKI, J.L.D.; PAIVA, R.; CAMARGO, I.P. de. Efeito de escarificação sobre a germinação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.20, n.1, p.7-14, abr. 1998.

DUTRA, A. S., MEDEIROS FILHO, S., TEÓFILO, E. M., & DINIZ, F. O. Germinação de sementes de *Senna siamea* (Lam.) HS Irwin e Barneby: Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 160-164, 2007.

FARIA, M.A.V.R.; PINHO, R.G.V.; PINHO, E.V.R.V.; GUIMARÃES, R.M.; FREITAS, F.E.O. Germinabilidade e tolerância à dessecação em sementes de milho colhidas em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 2, p. 276-289, 2004.

FERRAZ, D., RAMALHO, W. P., VALE, L. S. R. Methods for overcoming dormancy and seed storage of *Enterolobium contortisiliquum*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, 2019.

FERREIRA, A. G., & BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

FINCH-SAVAGE WE, FOOTITT S., To germinate or not to germinate: a question of dormancy relief not germination stimulation. **Seed Science Research** 22:243-248, 2012.

FONSECA, L.; ROITMAN, I.; JACOBSON, T. K. B.; OGATA, R. S.; SOLARI, R. A.; RIBEIRO, R. J. da C. Viabilidade do Hidrogel na Recuperação de Cerrado sensu stricto com Espécies Nativas. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 24, p. 1-8, 2017.

FONSECA, S. C. L., & FREIRE, H. B., Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**, v. 62, p. 297-303, 2003.

FOOTITT, S., DOUTERELO-SOLER, I., CLAY, H., & FINCH-SAVAGE, W. E., Dormancy cycling in Arabidopsis seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 50, p. 20236-20241, 2011.

FRANCO, A.C. Estratégias funcionais de plantas lenhosas das savanas do Brasil Central: relação ao déficit hídrico e ao regime luminoso. 2004. In: PALHARES, D.; FRANCO, A.C.; ZAIDAN, L. B. P. Respostas fotossintéticas de plantas de cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 2, p. 213-220, 2010.

GIROLDO, A. B., SCARIOT, A. Land use and management affects the demography and conservation of an intensively harvested Cerrado fruit tree species. **Biological Conservation**, [Reino Unido], v. 191, p. 150-158, 2015.

GUCCI, R., CARUSO, G., GENNAI, C., ESPOSTO, S., URBANI, S., & SERVILI, M., Fruit growth, yield and oil quality changes induced by deficit irrigation at different stages of olive fruit development. **Agricultural Water Management**, v. 212, p. 88-98, 2019.

HAN, B.; HUGHES, W. D.; GALAU, G. A.; BEWLEY, J. D.; KERMODE, A. R. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNAs and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds. *Planta*, Berlin, v. 201, p. 27-35, 1997.

HOFFMANN, W. A.; FRANCO, A. C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology : examples from Cerrados and forests of central Brazil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 3, p. 247–256, 2008.

KANEGAE, M. F., BRAZ, V. D. S., & FRANCO, A. C., Efeitos da seca sazonal e disponibilidade de luz na sobrevivência e crescimento de *Bowdichia virgilioides* em duas fitofisionomias típicas dos cerrados do Brasil Central. **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 459-468, 2000.

KANNABABU, N., MADHUSUDHANA, R., ELANGO VAN, M., AVINASH, S., DAS, I. K., & TONAPI, V. A., Stability analysis for seed longevity in landraces of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Indian J. Genet**, v. 80, n. 1, p. 39-49, 2020.

KOORNNEEF, M., BENTSINK, L., & HILHORST, H., Seed dormancy and germination. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 1, p. 33-36, 2002.

KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER, G., Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, [s. l.], v. 15, p. 281-307, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. p.295-338.

LEÃO, É. F., PEIXOTO, N., MORAIS JÚNIOR, O. P. D. Emergência de plântulas de pequi em função da planta matriz e uso de ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 416-423, 2012.

LEITE, G. L. D.; NASCIMENTO, A. F.; ALVES, S. M.; LOPES, P. S. N.; SALES, N. P. L. S.; ZANUNCIO, J. C. The mortality of *Caryocar brasiliense* in northern Minas Gerais State, Brazil. **Acta Scientiarum Agronomy**, [Maringá], v. 34, n. 2, p. 131-137, 2012.

MENDES, D. S. T. **Germinação e armazenabilidade de sementes de pequi**. 2015. 72 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.

MENDES, D. S. T.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANTIAGO, T. A.; PAJEHÚ, L. F.; GONÇALVES, A. P. Qualidade fisiológica e superação de dormência em sementes de pequi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2018.

MIRANSARI M, SMITH D.L.. Plant hormones and seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 110–121, 2014.

MORAIS JÚNIOR, O. P., Leão, E.F., SILVIA, F.C.; SILVIA, D.C.; AGUIR, J.T; PEIXOTO, N. MÉTODOS PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE MURICI. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 6, n. 1, p. 01 - 12, 2015.

MULLER, K.; TINTELNOT, S.; LEUBNER-METZGER, G. Endosperm-limited Brassicaceae seed Germination: Abscisic acid Inhibits Embryo-induced Endosperm Weakening of *Lepidium sativum* (cress) and Endosperm Rupture of Cress and *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Phytologist**. v.47, n. 7, p. 864-877, 2006.

NAMBARA, E., OKAMOTO, M., TATEMATSU, K., YANO, R., SEO, M., & KAMIYA, Y., Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. **Seed Science Research**, v. 20, n. 2, p. 55-67, 2010.

NAUTIYAL, A.R.; PUROHIT, A.N. Seed viability in sal. II. Physiological and biochemical aspects of ageing in seeds of *Shorea robusta*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.13, p.69-76, 1985.

NONOGAKI, H., BASSEL, G. W., & BEWLEY, J. D., Germination—still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574-581, 2010.

OLIVEIRA, M. N. S.; LOPES, P. S. N.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; PEREIRA, E. G.; RIBEIRO, L. M. Post-harvest quality of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) collected from the plant or after naturally falling off and subjected to slow and quick freezing. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. e-768, 2017.

OLIVEIRA, S. S.. **Efeito de giberelina, fungicida, tratamentos mecânicos e período de armazenamento sobre a germinação de sementes de pequi**. 2002. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2002.

OLIVEIRA, W.L., SCARIOT, S., Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do pequi – Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2010. 84 p.

PAJEHU, L. F. **Propagação e estabelecimento de plantas de pequi**. 2018. 51 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.

PALHARES, D.; FRANCO, A. C.; Z Aidan, L. B. P. Respostas fotossintéticas de plantas de Cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, [Porto Alegre], v. 8, n. 2, p. 213-220, 2010.

PAMMENTER N.W., BERJAK P. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, v.10, p.301–306, 2000.

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

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura/Agiplan, 1977. 289 p.

RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed Germination and Vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 507-533, 2012.

REGO, S. S., NOGUEIRA, A. C., KUNIYOSHI, Y. S., & SANTOS, Á. F. D., Morphological characterization of the fruit, the seed and seedling development of *Blepharocalyx salicifolius* (HBK) Berg. and *Myrceugeniagertii* Landrum-Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.52-60, 2010.

REIS, A. F., & SCHMIELE, M., Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos.. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019.

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

RODRIGUES, I. V; LOPES, P. S. N; RIBEIRO, L. M; MERCADANTESIMÕES, M. O; MARTINS, C. P. S; VIEIRA, F. R; CACIQUE, A. P; SANGLARD, D. A; SILVÉRIO, F. O. Fruit development and ABA biosynthesis during *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) Seed Maturation. **Journal of Plant Growth Regulation**, [Estados Unidos], 2019.

ROMERO-RODRÍGUEZ, M. C., ARCHIDONA-YUSTE, A., ABRIL, N., GIL-SERRANO, A. M., MEIJÓN, M., & JORRÍN-NOVO, J. V., Germination and early seedling development in *Quercus ilex* recalcitrant and non-dormant seeds: targeted transcriptional, hormonal, and sugar analysis. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1508, 2018.

ROSENTAL, L.; NONOGAKI, H.; FAIT, A. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. **Seed Science Research**, v. 24, p. 1-15, 2014.

SANO, N.; RAJJOU, L.; NORTH, H.M.; DEBEAUJON, I.; MARION-POLL, A.; SEO, M. Seed Viability During Dry Storage. **Plant and Cell Physiology**, Advance Access, 2015.

SANTOS, F. S.; SANTOS, R. F.; DIAS, P. P.; ZANÃO JUNIOR, L. A.; TOMASSONI, F. A cultura do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Iguazu**, v.2, n.3, p. 46-57, 2013.

SASSAKI, R.M., RONDON, J.N., Z Aidan, L.B.P. & FELIPPE, G.M. Longevity of seed from legume tree species artificially stored in cerrado and forest soils. **Hoehnea**, n. 26, p. 29-45, 1999.

SCHUCH, L. O., Nedel, J., Assis, F., Maia, M., & Rosenthal, M., Emergência no campo e crescimento inicial de aveia preta em resposta ao vigor das sementes. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 6, n. 2, 2000.

SILVA, R. P. da, TEIXEIRA, I. R., DEVILLA, I. A., REZENDE, R. C. & DA SILVA, G. C. 2011. Qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) durante o beneficiamento. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(4): 1219-1230.

SORIANO D., HUANTE P., BUEN A.G., OROZCO-SEGOVIA A. Seed reserve translocation and early seedling growth of eight tree species in a tropical deciduous forest in Mexico. **Plant Ecology**, v. 214, p. 3161–3175, 2013.

SOSINSKI JUNIOR, E.E., URRUTH, L.M., BARBIERI, R.L., MARCHI, M.M. & MARTENS, S.G., On the ecological recognition of *Butia* palm groves as integral ecosystems: why do we need to widen the legal protection and the *in situ* on-farm conservation approaches? **Land Use Policy**, v. 81, p. 124-130, 2019.

SOUSA, A. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; ANDRADE, M. S.; MERCADANTE-SIMOES, M. O. Structural aspects of germination control in pyrenes of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). **Trees**, [s. l.], v. 31, p. 887–902, 2017b.

SOUSA, A. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANTIAGO, T. A.; LACERDA, V. R.; MARTINS, C. P. S. Germination and storage of *Caryocar brasiliense* seeds. **Seed Sci. & Technol.**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 1-13, 2017.

SPARA, M.R.N., CUNHA, R., TEXEIRA, J.B., Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1567-1572, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 719p.
TAN-WILSON, A.; WILSON, K. A. Mobilization of seed protein reserves. **Physiologia Plantarum**, v. 145, p. 140-153, 2012.

THIRUSENDURASELVI, D., & SARASWATHY, S., Viabilidade de sementes, deterioração e melhorias na qualidade das sementes em sementes de cebola armazenadas: uma revisão. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 93, n. 1, pág. 1-7, 2018.

TUAN, P. A., SUN, M., NGUYEN, T. N., PARK, S., & AYELE, B. T. (2019). Molecular mechanisms of seed germination. **Sprouted Grains**. AACC International Press, 2019. p. 1-24.

VÁZQUEZ-YANES, C., & OROZCO-SEGOVIA, A., Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. **Annual Review of ecology and Systematics**, v. 24, n. 1, p. 69-87, 1993.

VERTUCCI, C. W., & FARRANT, J. M., Acquisition and loss of desiccation tolerance. **Seed development and germination**, p. 237-271, 2017.

VIEIRA, D. L., & SCARIOT, A., Principles of natural regeneration of tropical dry forests for restoration. **Restoration Ecology**, v. 14, n. 1, p. 11-20, 2006.

VILLELA, A. F.; MENEZES, L. N.; O potencial de armazenamento de cada semente – SEED NEWS. **Revista internacional de sementes**. ano XII – n. 4, 2009.

WATERWORTH, W. M., BRAY, C. M., & WEST, C. E., The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 12, p. 3549-3558, 2015.

4 ARTIGO

Estresse oxidativo e dinâmica de ABA controlam dormência e longevidade em sementes armazenadas de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)

Elaborado nas normas da revista *Journal of Plant Growth Regulation*.

Estresse oxidativo e dinâmica de ABA controlam dormência e longevidade em sementes armazenadas de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)

RESUMO

A interação entre o estresse oxidativo e a dinâmica de ABA compõe os principais mecanismos de controle da longevidade e germinação das sementes. No entanto, conhecimentos sobre o tema são ainda escassos para espécies tropicais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre estresse oxidativo, dinâmica de ABA, dormência e longevidade em sementes oleaginosas de *Caryocar brasiliense*, frutífera endêmica do Cerrado brasileiro. Pirênios (sementes envolvidas pelo endocarpo) foram armazenados em condição ambiental e avaliados ao longo de um ano. Foram relacionados indicadores de germinação, deterioração, estresse oxidativo (concentrações de H₂O₂, MDA, integridade das membranas e atividades de SOD, APX, GPX e CAT) e dinâmica de ABA (expressão de ABA1, NCED4, NCED9 e quantificação do hormônio). Após a dispersão, as sementes apresentam elevados teores de água, dormência pronunciada (relacionada à síntese e concentração de ABA) e tolerância à deterioração (baixos níveis de estresse oxidativo). Entre 40 e 60 dias de armazenamento, ocorreu redução nos teores de água e aumento do estresse oxidativo, que levaram à redução na síntese e acúmulo de ABA e alívio da dormência. Após este período, limitações no controle do estresse oxidativo causam gradual redução na síntese e acúmulo de ABA e perda da funcionalidade das membranas, o que resultou na deterioração das sementes. A interação entre o controle do estresse oxidativo e o balanço de ABA em sementes *C. brasiliense* definem que os melhores níveis de qualidade (maior viabilidade e germinabilidade) ocorrem entre o segundo e terceiro mês de armazenamento.

Palavras-chave: armazenamento de sementes, expressão gênica do ABA, germinação, peroxidação lipídica, sistema antioxidante.

Oxidative stress and ABA dynamics control dormancy and longevity in stored seeds of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)

ABSTRACT

The interaction between oxidative stress and ABA dynamics makes up the main mechanisms controlling seed longevity and germination. However, knowledge on the subject is still scarce for tropical species. The objective of this work was to evaluate the relationship between oxidative stress, ABA dynamics, dormancy and longevity in oilseeds of *Caryocar brasiliense*, a fruit tree endemic to the Brazilian Cerrado. Pyreniums (seeds surrounded by the endocarp) were stored in environmental conditions and evaluated over the course of one year. Indicators of germination, deterioration, oxidative stress (concentrations of H₂O₂, MDA, membrane integrity and activities of SOD, APX, GPX and CAT) and ABA dynamics (expression of ABA1, NCED4, NCED9 and quantification of the hormone) were listed. After dispersion, the seeds presented high water content, pronounced dormancy (related to the synthesis and concentration of ABA) and tolerance to deterioration (low levels of oxidative stress). Between 40 and 60 days of storage, there was reduction in water content and an increase in oxidative stress, which leads to a reduction in the synthesis and accumulation of ABA and relief of dormancy. After this period, limitations in the control of oxidative stress caused a gradual reduction in the synthesis and accumulation of ABA and loss of membrane functionality, which results in seed deterioration. The interaction between the control of oxidative stress and the ABA balance in *C. brasiliense* seeds defines the best quality levels (greater viability and germinability) that occur between the second and third months of storage.

Keywords: seed storage, ABA gene expression, germination, lipid peroxidation, antioxidant system.

4.1 Introdução

O destino das sementes após a dispersão depende da interação entre fatores intrínsecos e ambientais, os quais determinam a longevidade e o controle da germinação (Bewley *et al.*, 2013). O comportamento das sementes nessa fase é importante para a propagação, armazenamento, conservação *ex situ*, bem como para a ecologia das populações naturais (Vijayet al. 2015; Leperlier et al. 2018; Ferraz et al. 2019; Silva *et al.*, 2019). Durante o armazenamento, os lotes de sementes tendem, normalmente, a reduzir sua viabilidade e vigor e, por outro lado, a aumentar sua capacidade germinativa (Bewley *et al.*, 2013; Chhabra *et al.*, 2019). No entanto, existe grande variação nesse padrão entre diferentes tipos de sementes, sendo que existem poucos trabalhos aprofundados sobre o tema para espécies tropicais (Bewley *et al.*, 2013).

A velocidade com que ocorre a perda da qualidade depende da capacidade de as sementes armazenadas limitarem o processo de deterioração por meio de mecanismos de proteção (Waterworth *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2018; West *et al.*, 2019). O estresse oxidativo decorrente do desequilíbrio entre produção e remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é a principal causa de peroxidação de lipídios, a qual resulta na perda da funcionalidade das membranas celulares e leva à deterioração das sementes (Schwember e Bradford 2010; Kocsy 2015; Araldi *et al.*, 2016). A prevenção de níveis críticos de ROS envolve a atuação de mecanismos enzimáticos (atividade de SOD, APX, GPX e CAT) e não enzimáticos (ascorbato, glutatona, flavonóides) (Barbosa *et al.* 2014; Varjovi *et al.*, 2015; Caverzan *et al.*, 2016). Quando os níveis de ROS estão controlados, estas moléculas constituem importantes sinalizadoras em diversos processos fisiológicos, incluindo o controle da germinação (Bewley *et al.*, 2013; Bailly, 2004, 2019). O ácido abscísico (ABA) é o principal hormônio envolvido na restrição da germinação e tolerância ao estresse em sementes de diversas espécies e cujo metabolismo é influenciado fortemente pelo estresse oxidativo (Bewley *et al.*, 2013; Tuan *et al.*, 2018; Bailly, 2019). Neste contexto, o estudo da interação entre o estresse oxidativo e a dinâmica do ABA é importante para a compreensão do comportamento das sementes durante o armazenamento.

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.), árvore nativa do Cerrado brasileiro, tem importância econômica, social, cultural e ecológica (Girollo e Scariot 2015). Os frutos oleaginosos da espécie apresentam propriedades antioxidantes e são utilizados como fonte de alimento e nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (Bastista e Souza 2019; Reis e Schmiele 2019; Ketenoglu *et al.*, 2020). Entretanto, o *C. brasiliense* se encontra ameaçado pelo desmatamento e extrativismo predatório, aliado à dificuldade de reprodução natural, consequência da tendência de perda da viabilidade e baixa germinabilidade de suas sementes. A propensão à deterioração das sementes de *C. brasiliense* está relacionada aos elevados teores de água (no momento da dispersão) e de óleo (Rodrigues *et al.*, 2020). Por sua vez, a baixa germinabilidade é atribuída à pronunciada dormência, devido à associação entre o endocarpo rígido que envolve a semente e impede a expansão do embrião e o acúmulo de ABA (Larcher 2000; Liu *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2017a; Rodrigues *et al.*, 2020). No entanto, ainda não existem informações sobre os mecanismos envolvidos e sobre como a viabilidade e dormência das sementes se alteram ao longo do armazenamento.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a interação entre o estresse oxidativo e a dinâmica do ABA em sementes armazenadas de *C. brasiliense*. Procurou-se responder as seguintes questões: (I) *como a qualidade fisiológica e a capacidade germinativa se alteram ao longo do tempo?* (II) *como o estresse*

oxidativo e a dinâmica de ABA controlama longevidade e a dormência?

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do material vegetal e armazenamento dos pirênios

Frutos de *C. Brasiliense* foram coletados, após a abscisão natural, em, aproximadamente, 100 plantas, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2018, no município de São João da Lagoa, norte do estado de Minas Gerais, Brasil (16°46'42"S; 44°18'24"W). Os pirênios (semente envolvida pelo endocarpo que consiste na unidade de dispersão da espécie) foram obtidos dos frutos, pela retirada manual, com auxílio de uma faca, do exocarpo e dos mesocarpos externo e interno.

Os pirênios foram armazenados por 365 dias, em local sombreado e arejado, com temperatura e umidade relativa do ar, variando, respectivamente, entre 17,8 e 35 °C e 45% a 80%. As avaliações foram realizadas na condição inicial e aos 40, 60, 120, 240, e 365 dias de armazenamento. Nestes períodos, as sementes foram extraídas dos pirênios, utilizando moto-esmeril, torno de bancada, alicate adaptado e pinça conforme metodologia de Mendes (2015). As sementes que apresentaram injúrias, danos ocasionados por insetos, má formação, murchas ou necroses foram descartadas.

4.2.2 Avaliação do conteúdo de água, germinação e deterioração das sementes

Cinco repetições de 20 sementes, obtidas após cada período de armazenamento, foram destinadas à avaliação do conteúdo de água, germinação e deterioração. O conteúdo de água foi determinado por meio da relação entre as massas frescas e secas das sementes, após a desidratação em estufa, a 105±3 °C, por 24 horas (Brasil, 2009).

As sementes foram tratadas com os fungicidas carboxina (100 g L⁻¹) e tiram (100 g L⁻¹) (VitavaxThiram®) e semeadas em bandejas de polietileno transparente, contendo vermiculita média, umedecida com água destilada a 80% da capacidade de retenção. As bandejas foram mantidas em câmara de germinação (BOD), a 30°C, com fotoperíodo de 12 horas. As sementes foram avaliadas diariamente, por 30 dias, sendo consideradas germinadas aquelas que apresentaram ruptura do tegumento e protrusão da raiz e/ou crescimento da plúmula de 3mm. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado pelo somatório da razão entre o número de sementes germinadas em cada dia e o número de dias após a semeadura (Maguirre, 1962).

Ao final dos 30 dias de cultivo, as sementes que não germinaram foram avaliadas visualmente, sendo que aquelas com os tecidos completamente necrosados e inconsistentes foram consideradas deterioradas, enumeradas e descartadas. As demais sementes não germinadas foram embebidas em solução de GA₃, na concentração de 125 mg/L (Progibb 400, Abbott Laboratórios, North Chicago, EUA), por 24h, e semeadas novamente, sendo as avaliações realizadas, conforme descrito anteriormente.

4.2.3 Quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

A quantificação do H₂O₂ (uma das principais ROS) foi realizada em quatro repetições de 30mg de embriões, para cada período de armazenamento. Utilizou-se o protocolo de Alexieva *et al.* (2001), que se baseia na reação específica entre H₂O₂ e iodeto de potássio (KI). As amostras de tecidos das sementes foram maceradas em nitrogênio líquido, transferidas para solução tricloroacético (TCA) a 0,1%, homogeneizadas em vórtex por 1 minuto e centrifugadas a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C. 500 µL do

sobrenadante foram adicionados a 500 μL de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 7,5) e 2 mL de KI (1 M) e mantidos em um banho de gelo no escuro por 60 minutos, seguido de um banho de água em temperatura ambiente por 10 minutos. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800, Tokyo, Japão) a 390 nm; o branco consistiu em 500 μL de ácido tricloroacético (0,1%), 500 μL de tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 7,5) e 2 mL de KI (1 M). As concentrações de H_2O_2 foram estimadas com base em curva de calibração preparada com soluções conhecidas de H_2O_2 , sujeitas aos mesmos procedimentos descritos acima. Os resultados foram expressos em μmol por grama de massa fresca.

4.2.4 Avaliação da atividade enzimática do sistema antioxidante

Foram maceradas quatro repetições de 20mg de embriões para cada período de armazenamento em nitrogênio líquido. As amostras foram homogeneizadas em vortex, por 1 minuto, com PVPP (10% m/v), 500 μL de tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 6,8), 10 μL de EDTA (100 μM) e 490 μL de água deionizada e os extratos centrifugados a 10.000 g a 4 °C por 15 minutos. As atividades de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases do ascorbato (APX) foram determinadas em 100 μL de sobrenadante.

A atividade SOD foi determinada pela adição do sobrenadante a uma solução com tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 7,8), metionina (13 mM), NBT (75 μM), 100 μM de EDTA de riboflavina (2 μM) e água deionizada. As soluções foram submetidas à luz fluorescente (15 W) a 25 °C. Após 10 minutos de exposição à luz, a atividade enzimática foi encerrada com a interrupção da luz. As reações de controle foram mantidas no escuro por 10 minutos. Foi analisado o composto azul de formazan por espectrofotometria (UV1800, Shimadzu, Tóquio, Japão) a 560 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a atividade enzimática que inibiu 50% da fotoredução do NBT, e os resultados foram revelados em $\text{U min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína (Giannopolitis e Ries, 1977).

Para a determinação da atividade CAT, adicionou-se o extrato ao tampão fosfato de potássio (50 mM, pH6,8) e, no momento da análise, H_2O_2 recém preparado (12,5 mM). A análise foi realizada em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Tokyo, Japan) a 240 nm, por 1 minuto. A atividade CAT foi estimada, usando o coeficiente de extinção molar (ϵ) igual a 39,4 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Cakmak e Horst 1991) e os resultados foram expressos em $\text{mmol de H}_2\text{O}_2\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína.

A análise da atividade da APX foi realizada pela adição do extrato ao tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,8) e, no momento da análise, de ascorbato (0,25 mM) e H_2O_2 (1,0 mM). A taxa de oxidação do ácido ascórbico foi acompanhada por 1 min, registrando os valores de absorvância a 290 nm a cada 10 s em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Tóquio, Japão). A atividade APX foi determinada utilizando ϵ igual a 2,8 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol de ascorbatomin}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína (Nakano e Asada, 1981).

4.2.5 Quantificação do indicador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA)

Cinco repetições de 20 mg dos embriões, para cada período de armazenamento, foram maceradas e homogeneizadas em 1,5 ml de tampão de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (w/v), em vortex, por 1 minuto. O extrato foi centrifugado a 12000 g por 15 minutos, e, em seguida, 1 ml do sobrenadante foi adicionado a 3 ml de ácido tio barbitúrico 0,5% (m/v) (preparado em TCA 20%). As soluções foram incubadas em banho termostático a 95°C, por 60 minutos e, logo após, resfriada em banho de gelo, durante

10 minutos. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Tokyo, Japan) em comprimentos de onda de 532 e 660 nm, eliminando interferências pela subtração dos valores obtidos nos comprimentos de onda (532-660). A quantidade de MDA foi expressa em nmol g^{-1} de massa seca (Health e Packer 1968).

4.2.6 Estimativa da funcionalidade das membranas - avaliação da condutividade elétrica

Cinco repetições de 20 sementes, de cada tempo de armazenamento, tiveram a massa mensurada e foram submersas em 150 ml de água ultrapura, e mantida em germinador a 30°C. A condutividade elétrica foi determinada nos tempos 0, 6, 12, 18, 24, 36, e 48 horas (Lutron, PCD-432, Digital Instruments, Taiwan). Após 48 horas de embebição, as sementes foram desidratadas em estufa, a 105°C, por 24 horas (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em μS grama de massa fresca.

4.2.7 Avaliação da expressão de genes das rotas de síntese do ABA

Foram excisados cinco embriões, com auxílio de bisturi, a plúmula (no ponto de inserção do cotilédone – Fig.1) e o polo radicular (a 3 mm da sua extremidade distal – Fig.1). O RNA total foi isolado das estruturas embrionárias obtidas de sementes armazenadas por 0 (Fig. 1a), 40, 60, 120, 240, e 365 (Fig. 1b.) dias, utilizando o TriReagent® (Sigma-Aldrich, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A pureza e a concentração das amostras de RNA isoladas foram verificadas em géis de agarose a 1% (m/v) e em um espectrofotômetro. A transcrição reversa foi realizada usando o kit de transcrição reversa de cDNA de alta capacidade (AppliedBiosystems, EUA) e 10 μg de RNA total, de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de cDNA foi determinada espectrofotometricamente.

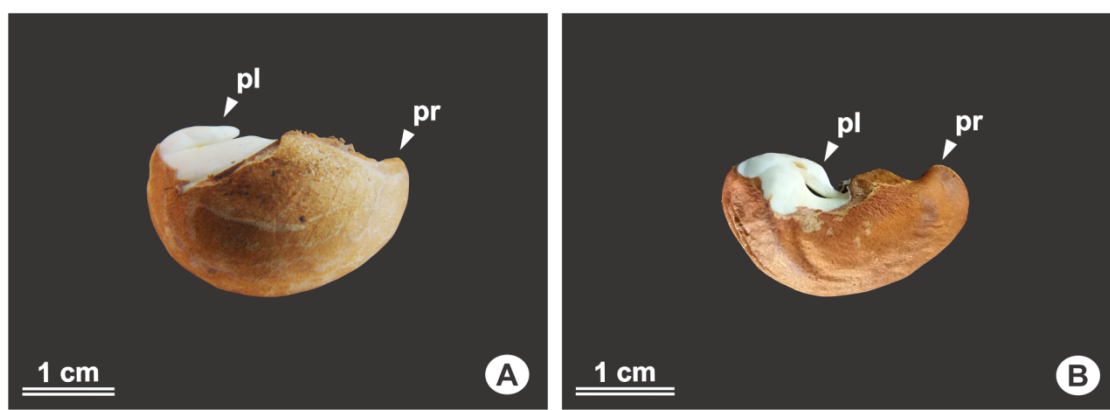


Figura 1: Morfologia dasemente de *C. brasiliense*. (A) semente recém dispersa (B) semente com 365 dias de armazenamento. Detalhe da semente: pl (plúmula) e pr (pólo radicular).

Todas as reações de qPCR foram realizadas no Real-Time PCR Systems 7500 Fast (AppliedBiosystems, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. Os primers do qPCR foram projetados para evitar as regiões conservadas em *Arabidopsis thaliana*. As sequências de primers são mostradas na Tabela 1 (CbABA1, CbNCED4 e CbNCED9). ACT2 e GAPC2 foram utilizados como um gene de referência interno para normalizar a expressão (Tabela 1). As reações foram realizadas em triplicata, contendo 10 ng de cDNA, 0,5 μL de cada primer (10 pmol), 10 μL de PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (AppliedBiosystems, EUA) e água Milli-Q estéril para um volume final de 20 μL . As reações de amplificação foram realizadas nas seguintes condições: (1) ativação da Taq DNA polimerase a 50 °C por

2 minutos (2) desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos (3) desnaturação a 95 °C por 20 segundos (4) anelamento/extensão a 60 °C por 30 segundos. Os passos 3 e 4 foram repetidos durante 40 ciclos.

O programa Dissociation Curve 1.0 (AppliedBiosystems, EUA) foi utilizado para verificar se apenas um único produto de PCR foi gerado pela amplificação de transcritos. Reações de controle desprovidas de cDNA foram usadas em todas as experiências. A expressão gênica foi quantificada usando os métodos comparativos Ct: $2^{-\Delta Ct}$ e $2^{-\Delta\Delta Ct}$, com dados obtidos de três réplicas biológicas e duas réplicas experimentais (Livak e Schmittgen, 2001).

As transcrições foram validadas usando o sequenciador automático AB3500 GeneticAnalyzer equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (AppliedBiosystems, EUA). A sequenciação foi realizada usando o BigDye™ Terminatorv3.1CycleSequencing Kit (AppliedBiosystems, EUA). A sequência de consenso das submissões resultantes de 5' e 3' UTR foi pesquisada no banco de dados Phytozomev12.1 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) usando BLAST e BLASTx. Os resultados dessa análise são apresentados no material complementar.

Tabela 1. Primers utilizados nas análises de qPCR de tecido embrionário de *C. brasiliense*

Símbolo	Gene	Primer	Referências
CbABA1	ABA deficient 1	F: 5'- AACCCGGAGGAGTATCTGG -3' R: 5'- AACACCAATCCTCCGATTC -3'	Bentsink <i>et al.</i> (2006)
CbNCED4	Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 4	F: 5'- TCTCGCAACAGCTCTCTTCA -3' R: 5'- AGAGTGCCGTGGATGATTTTC -3'	Wang <i>et al.</i> (2013)
CbNCED9	Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 9	F: 5'- ATCGACCGGAGAGATTCGAAAG -3' R: 5'- TCACCTTCTCCTCGTCGTGAAC -3'	Liu <i>et al.</i> (2007)
CbACT2	Actin 2	F: 5'- CTCTCCTTGTACGCCAGTGGTC -3' R: 5'- TAAGGTCACGTCCAGCAAGGTC -3'	Liu <i>et al.</i> (2007)
CbGAPC2	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	F: 5'- TGGTGACAACAGGTCAAGCA -3' R: 5'- AAAGTTGTTCGCTCAATGCAATC -3'	Gao <i>et al.</i> (2015)

4.2.8 Quantificação do ABA

Quatro repetições de 50 mg da plúmula e do polo radicular foram extraídas de embriões de sementes em cada período de armazenamento. A quantificação do ABA foi realizada, conforme metodologia adaptada de Müller e Munné-Bosch (2011). O padrão analítico ABA e os extratos das duas estruturas foram analisados em um sistema UPLC acoplado a um detector de arranjo de diodo (1290 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, EUA). 20 µL de cada amostra foram injetados na coluna

analítica (15 cm × 4,6 mm, 5 µm) (Kinetex, Phenomenex, Torrance, EUA). O gradiente de eluição foi realizado com água ultrapura acidificada a 0,05% de ácido acético (solvente A) e acetonitrila com 0,05% de ácido acético (solvente B). A temperatura foi mantida a 30 °C e o fluxo da fase móvel foi de 0,600 mL min⁻¹. A detecção utilizou o comprimento de onda de 250 nm e a identificação do pico cromatográfico do ABA nas amostras foi realizada comparando seu tempo de retenção com o do padrão analítico. Cada avaliação foi realizada duas vezes para cada replicação biológica. Os resultados foram expressos em uma base de peso fresco.

4.2.9 Análise estatística

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, quando significativos ($p < 0,05$), e as médias do conteúdo de água, MDA, condutividade elétrica foram ajustadas a equações de regressão, enquanto as médias dos dados de germinação, IVG, deterioração das sementes, H₂O₂, atividade enzimática, expressão gênica e ABA foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.3 Resultados

As sementes recém-dispersas de *C. brasiliense* apresentavam conteúdo de água de 40,9%, o qual diminuiu ao longo do armazenamento para 9,8%, aos 40 dias, e 7%, aos 60 dias. A partir desse tempo, o teor de água se manteve constante até o final da avaliação (Fig. 2).

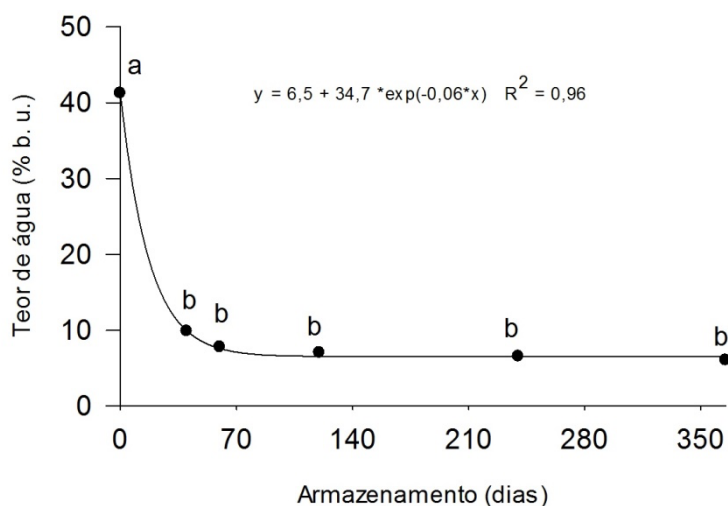


Figura 2. Conteúdo de água de sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias, em condição ambiental.

As sementes armazenadas por 365 dias não germinaram (Fig. 3a). Naquelas submetidas aos demais tratamentos, a germinação se iniciou entre nove e 12 dias após a semeadura e apresentou tendência de estabilização entre 24 e 30 dias. Aos 30 dias após a semeadura, todos os tratamentos divergiram entre si, sendo que, o armazenamento por 40 dias proporcionou maior germinação (37%), enquanto que as sementes recém dispersas germinaram em baixos percentuais (16%). Após a aplicação do GA₃, aos 30 dias pós-semeadura, ocorreu um aumento acentuado na germinabilidade, principalmente nas sementes armazenadas entre 0 e 60 dias. Entretanto, o uso do GA₃ em sementes estocadas por 240 dias não alterou a taxa de germinação. O armazenamento das sementes por 40 dias, associado à aplicação do GA₃, proporcionou a maior taxa de germinação (80%), seguido pelos tratamentos 60 dias de

armazenamento e ausência de armazenamento (Fig. 3a). O armazenamento das sementes por 40 e 60 dias proporcionaram IVG superior aos demais tratamentos, os quais não divergiram entre si (com exceção do armazenamento por 365 dias, que foi zero) (Fig. 3b).

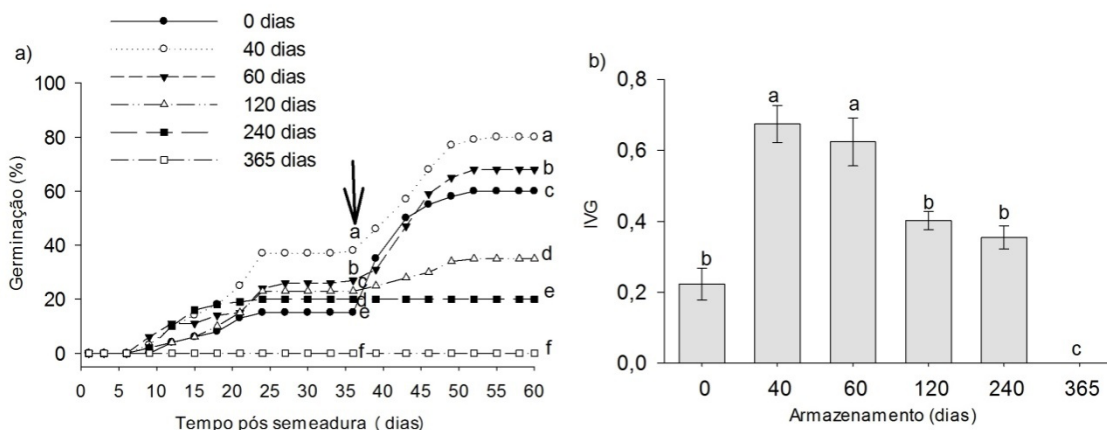


Figura 3. Porcentagem de germinação acumulada (a seta indicando a época da aplicação de GA_3) (a) e Índice de Velocidade de germinação (IVG), aos 30 dias pós-plantio (b), de sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias, em condição ambiental. Letras diferentes indicam diferença estatística, pelo teste Tukey, $p < 0.05$, aos 30 e 60 dias pós-semeadura. As barras representam o erro padrão da média.

O aumento no tempo estocagem proporcionou acréscimos na deterioração das sementes, após 30 e 60 dias da semeadura (Fig. 4). No entanto, a ausência de armazenamento proporcionou maior deterioração, em relação ao armazenamento por 40 dias e não divergiu do armazenamento por 60 dias. Aos 60 dias, o pós-plantio ocorreu um aumento de no máximo 6% na taxa de deterioração das sementes em relação à avaliação realizada aos 30 dias (dados não apresentados). A deterioração de 100% das sementes armazenadas por 365 dias indica que esta é a causa da ausência de germinação nesse tratamento (Fig. 3a).

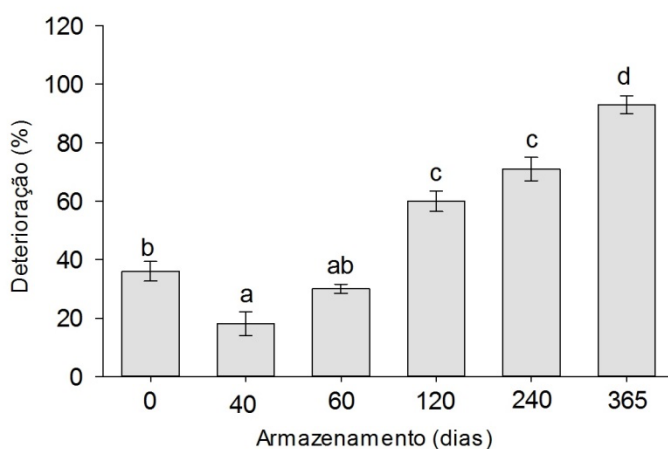


Figura 4. Porcentagem de deterioração das sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias, após 30 dias da semeadura. Letras diferentes indicam diferença estatística, pelo teste Tukey, $p < 0.05$. As barras representam o erro padrão da média.

Os níveis de H_2O_2 , que eram baixos nas sementes recém dispersas e naquelas armazenadas por 40 dias, aumentaram significativamente (mais de duas vezes) a partir dos 60 dias de armazenamento, sendo que, a partir daí os tratamentos, não divergiram entre si (Fig. 5a). A atividade SOD nas sementes recém dispersas foi maior que nas sementes armazenadas por 240 e 360 dias e não apresentou diferenças

significativas na comparação entre os tempos de armazenamento (Fig. 5b). A atividade CAT foi cerca de quatro vezes maior aos 60 dias de armazenamento, em relação aos demais tratamentos, os quais não divergiram entre si (Fig. 5c). A atividade APX não foi detectada em nenhum dos tratamentos.

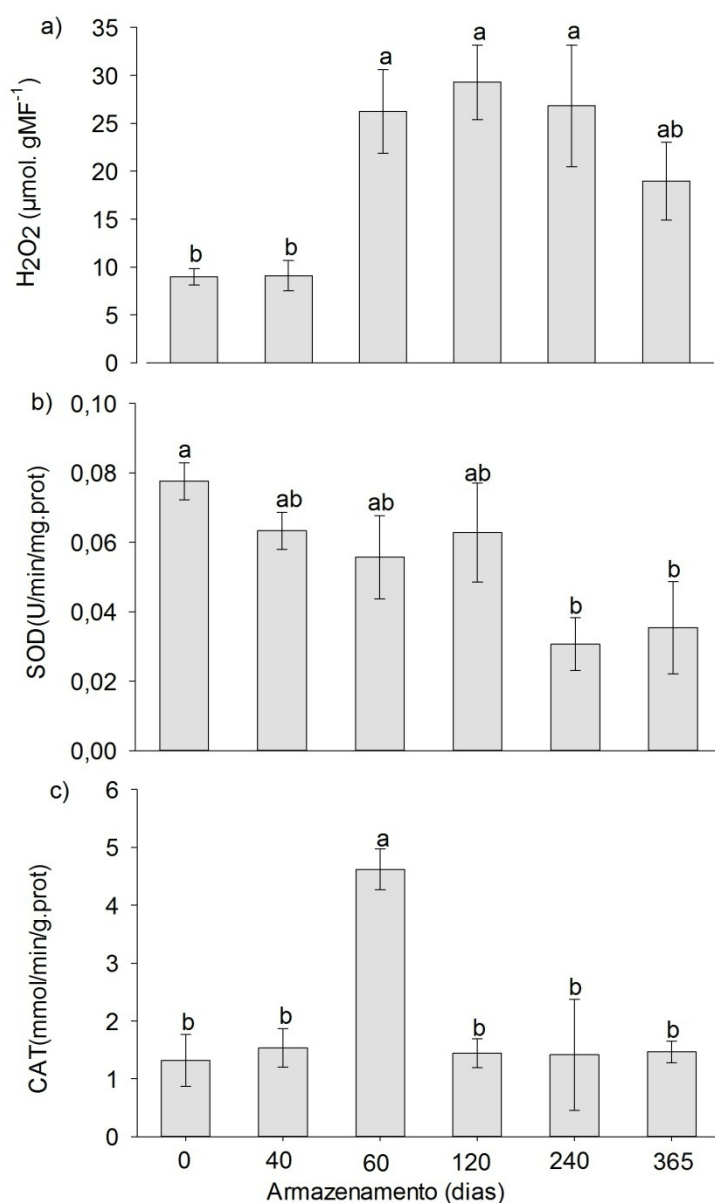


Figura 5. Concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (a) e atividade de catalase (CAT) (b) e de superóxido dismutase (SOD) (c) em sementes de *C. Brasiliense* armazenadas por 365 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística, pelo teste Tukey, $p < 0.05$. As barras representam o erro padrão da média.

A concentração de MDA aumentou ao longo do tempo de armazenamento das sementes, com incremento de 5,7 vezes, nos primeiros 40 dias de estocagem (Fig. 6). Entretanto, esses incrementos se tornaram cada vez menores entre os intervalos de tempo ao longo do armazenamento, principalmente, nos dois últimos, com aumento em quatro meses, entre 120 e 240 dias, de 1,2 vez, e, entre 240 e 365 dias, de 1,1 vez. Isso proporcionou uma tendência geral de estabilização na concentração de MDA, especialmente, a partir de 240 dias de armazenamento

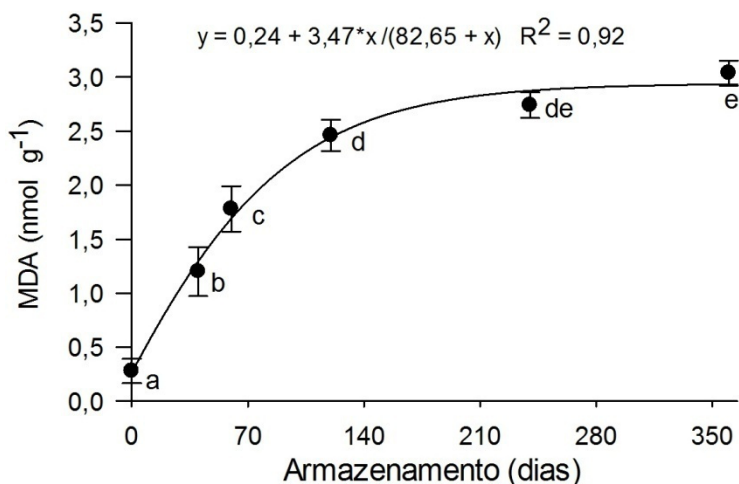


Figura 6. Concentração de malondialdeído (MDA) em sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 0, 40, 60, 120, 240 e 365 dias.

Na estimativa da funcionalidade das membranas (avaliação da lixiviação de solutos por condutividade elétrica), houve efeito da interação entre os tempos de armazenamento e de embebição. Em todos os períodos de estocagem, a condutividade elétrica aumentou linearmente com o avanço no tempo de embebição (Fig.7). Após seis horas de embebição, não se observou diferenças entre os tratamentos, porém, a partir de 12 horas, foi identificada elevada liberação de solutos nas sementes armazenadas a partir de 120 dias. Ao final da avaliação, a lixiviação nas sementes armazenadas por 365 dias foi superior aos demais tratamentos, enquanto as sementes armazenadas por até 60 dias proporcionaram menores níveis de condutividade elétrica.

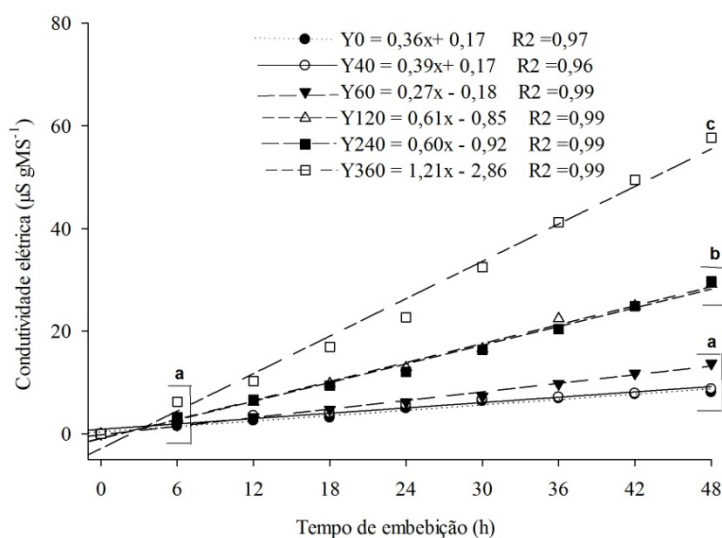


Figura 7. Condutividade elétrica de sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias e imersas por 48h em água deionizada. Letras diferentes indicam diferença estatística, pelo teste Tukey, $p < 0,05$, às 6h e 48h de embebição das sementes. A seta indica o tempo de embebição em que os três primeiros tempos de armazenamento tornam-se diferentes dos demais.

Os genes, ABA1, NCED4 e NCED9, foram expressos na plúmula e no polo radicular em níveis diferentes e em todos os tempos de armazenamento das sementes (Fig. 8a-c). As sementes recém-dispersas não apresentaram diferença de expressão entre as estruturas para os três genes (Fig.8a-c). A partir dos 40 dias de armazenamento, até o final das avaliações, a maior atividade do ABA1 foi verificada

na plúmula (Fig. 8a), e de NCED4 e NCED9, no polo radicular (Figura 8b-c). De forma geral, tanto na plúmula quanto no polo radicular, ocorreu redução na expressão dos três genes, entre o período de coleta da semente até o seu armazenamento por 60 dias (Fig. 8a-c). A partir dos 120 dias de estocagem, independente da estrutura, houve pequena alteração na expressão de ABA1, NCED4 e NCED9.

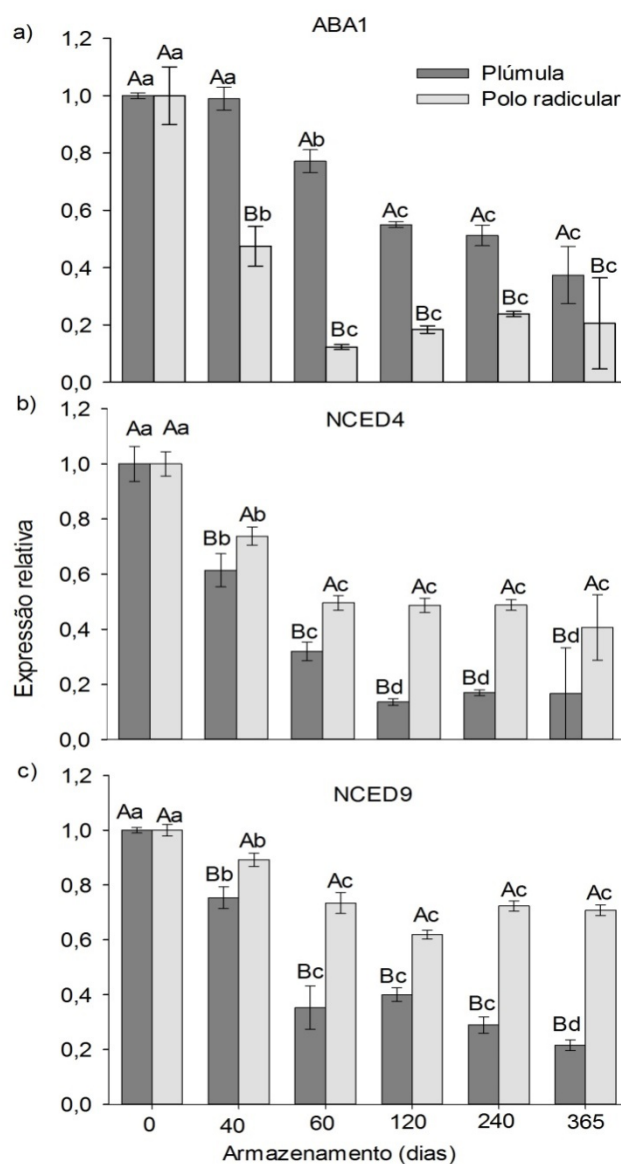


Figura 8. Análise de expressão gênica de ABA1 (a) NCED4 (b) e NCED9 (c), na plúmula e polo radicular, em sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias, via qPCR. GAPC2 e ACT2 foram utilizados como controles endógenos. Letras maiúsculas comparam as estruturas das sementes (plúmula e polo radicular) dentro de cada tempo de armazenamento, enquanto as minúsculas, tempos de armazenamento dentro de cada estrutura, pelo teste Tukey, $p < 0.05$. As barras representam o erro padrão da média.

As concentrações de ABA, independentemente da estrutura da semente, reduziram ao longo do tempo, sendo a redução mais expressiva entre a condição inicial e 40 dias de armazenamento (Fig. 9). A plúmula apresentou, em média, um acúmulo de ABA, 1,31 vezes, superior à radícula para sementes recém-dispersas e armazenadas por 40 dias. Para os demais tratamentos, não houve diferença na quantidade de ABA nas duas estruturas.

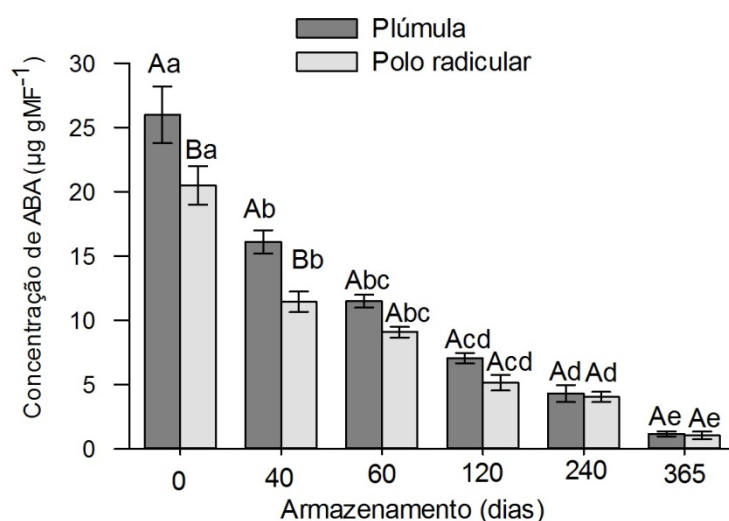


Figura 9. Concentrações de ácido abscísico (ABA) na plúmula e no polo radicular de sementes de *C. brasiliense* armazenadas por 365 dias. Letras maiúsculas comparam as estruturas das sementes (plúmula e polo radicular) dentro de cada tempo de armazenamento, enquanto as minúsculas, tempos de armazenamento dentro de cada estrutura, pelo teste Tukey, $p < 0.05$. As barras representam o erro padrão da média.

4.5 Discussão

4.5.1 Qualidade fisiológica e capacidade germinativa ao longo do tempo

Os níveis máximos de qualidade fisiológica e germinabilidade ocorrem entre 40 e 60 dias de armazenamento das sementes de pequi. Nesse período, são atingidos os valores máximos de germinação e vigor (associado ao IVG) e mínimo de deterioração das sementes (Fig. 10a-b). De forma geral, o armazenamento reduz o vigor e a viabilidade das sementes, porém (devido à pós-maturação, no curto prazo), comumente, aumenta a taxa de germinação (Bewley *et al.*, 2013). No caso do pequi, logo após um curto período de armazenamento, a qualidade fisiológica e germinabilidade das sementes aumentam, principalmente, em função da superação da dormência. Nossos resultados mostraram que o aumento da germinabilidade nessa ocasião está associado ao aumento da sensibilidade ao GA₃ (Fig. 3a, 10b). O GA₃ e o armazenamento promovem a germinação em sementes de pequi, como demonstrado em alguns trabalhos (Dombroski *et al.*, 2010; Sousa *et al.*, 2017a, b). As giberelinas estimulam o afrouxamento da parede celular, permitindo a expansão e alongamento das células do embrião, o que, em muitos casos, é crucial para a protrusão da radícula e/ou caulículo (Nonogaki *et al.*, 2010; Bewley, 2013; Baskin e Baskin 2014; Sousa *et al.*, 2017a). Já o armazenamento leva à redução da concentração do ABA, à síntese e aumento na sensibilidade às GA_s, promovendo aumento na taxa GA_s/ABA, o que foi constatado para várias espécies, inclusive para o pequi (Neves *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2015; Sousa *et al.*, 2017a).

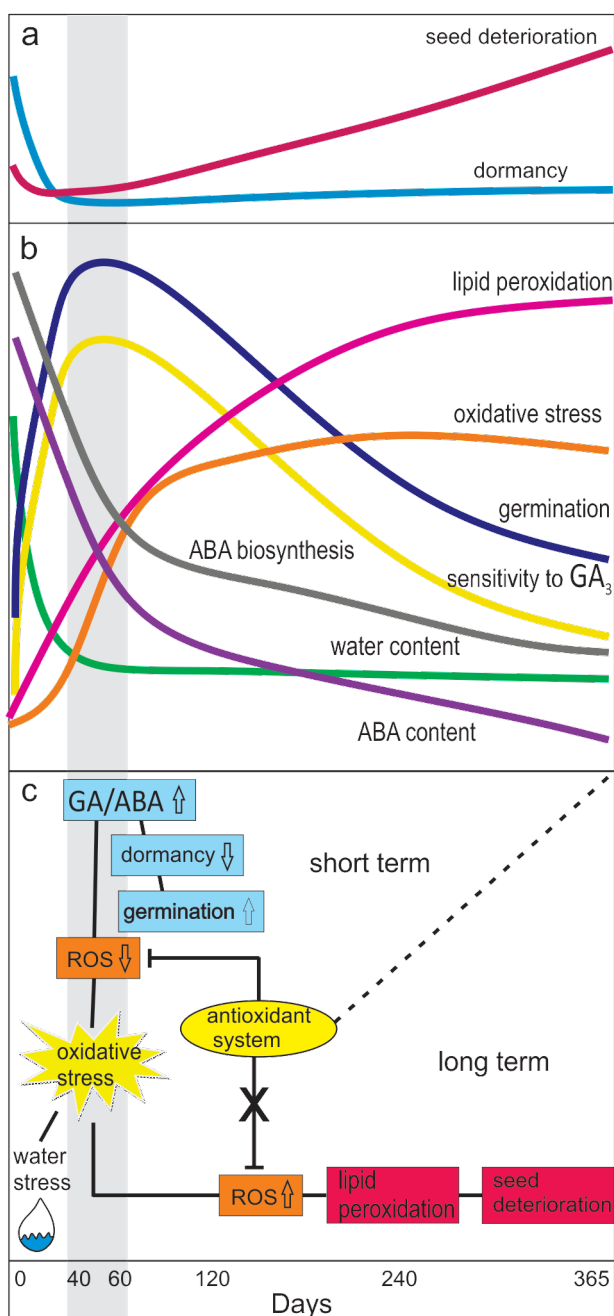


Figura 10. Esquema integrando as alterações nas sementes de *Caryocar brasiliense* durante o armazenamento por 365 dias. a) Alterações na taxa de deterioração e dormência. b) Alterações fisiológicas. c) Interação entre o estresse oxidativo, superação da dormência e deterioração das sementes. A faixa cinza representa a fase de maior qualidade e menor nível de dormência.

O armazenamento prolongado de sementes de *C. brasiliense*, após 60 dias, reduz a qualidade fisiológica e a capacidade germinativa. Isso é demonstrado pelas menores taxas de germinação, redução no vigor (IVG) e aumento na taxa de deterioração da semente após 60 dias de estocagem (Fig. 10a-b). A redução da capacidade germinativa das sementes armazenadas está relacionada às transformações degenerativas irreversíveis (lesões celular e molecular) que as sementes sofrem após ter atingido seu nível máximo da qualidade fisiológica, reduzindo, inevitavelmente, o vigor das sementes (Costa *et al.*, 2012; Chaves *et al.*, 2012; Bewley *et al.*, 2013). Assim, o processo de deterioração é intensificado com o aumento do tempo de armazenamento das sementes e as condições nas quais estão submetidas (Bewley *et al.*, 2013). Estudos realizados com *C. brasiliense* após período de estocagem a seco, constataram

elevada taxa de deterioração após dois meses de armazenamento (Mendes, 2015; Souza *et al.*, 2017a).

Os dados apresentados no presente estudo demonstram que tratamentos pré-germinativos, como a aplicação de GA₃ associado com o armazenamento de pirênios por 40 e 60 dias, promovem a germinação, sem comprometer a qualidade fisiológica das sementes. A conservação de populações naturais, o melhoramento genético e a implantação de cultivos comerciais de pequiheiro são dependentes da produção de mudas em larga escala e nossos resultados podem ser úteis para o estabelecimento de protocolos eficientes de propagação da espécie.

4.5.2 O estresse oxidativo e a dinâmica de ABA controlam a longevidade e a dormência

Após 60 dias de armazenamento, a deterioração das sementes de pequiheiro é causada pela incapacidade de controle do estresse oxidativo. A estocagem das sementes, a partir desse período, proporciona elevadas concentrações de MDA e alta condutividade elétrica, o que está associado à redução na germinabilidade e na longevidade das sementes (Fig. 10a-b). Durante o armazenamento a seco das sementes (pós-maturação), o estresse hídrico decorrente da desidratação leva ao acúmulo de EROs, as quais podem causar estresse oxidativo, caso o sistema antioxidante não seja eficiente em sua remoção (Bailly 2004; Job *et al.* 2005). O incremento na produção de MDA (consequência da peroxidação de lipídios) e o extravasamento de solutos, caracterizam danos às membranas celulares, (Khan e Panda 2008). Portanto, as sementes de *C. brasiliense* podem não possuir um sistema de reparo de membranas eficiente, limitando o tempo de armazenamento até 60 dias, quando as sementes isoladas são colocadas para germinar (Fig. 10c).

O peróxido de hidrogênio é uma das principais EROS e sua presença em níveis controlados pode ter consequências positivas (na redução dos níveis de ABA e superação da dormência, por exemplo), enquanto seu acúmulo acarreta estresse oxidativo, com peroxidação de lipídios, danos à membranas e perda de viabilidade das sementes (Demidchik 2015; Wojtyla *et al.*, 2016; Waszczak *et al.* 2018). No sistema antioxidante de sementes de *C. brasiliense*, foi detectado atividade de SOD e a CAT. A enzima SOD desempenha maior atividade em sementes recém-dispersas e menor nos períodos finais de armazenamento. A maior atividade da SOD nessa fase está associada à atuação na primeira linha do sistema de defesa contra EROs, dismutando radicais de superóxido livre (O₂⁻) em oxigênio molecular (O₂) e H₂O₂ (Alscher *et al.*, 2002; Bailly, 2004). A CAT, por sua vez, é responsável pela decomposição do H₂O₂ em O₂ e água, prevenindo seu acúmulo (Mittler, 2002). A CAT apresenta maior atividade aos 60 dias, com redução nos outros tempos de armazenamento, indicando que o sistema antioxidante falha ao controlar o acúmulo do peróxido de hidrogênio. A redução da atividade CAT pode ter contribuído para a peroxidação lipídica, tanto pelo excesso de H₂O₂, quanto pela conversão deste em radical hidroxila (:OH) (via reação de Fenton), que é altamente reativo e danoso às membranas celulares (Bailly, 2004; Bailly, 2019). Portanto, a diminuição da atividade da CAT deixa as sementes *C. brasilienses* mais propícias aos efeitos negativos das EROs e contribui para a perda de viabilidade e menor longevidade a partir de 60 dias de armazenamento (Fig. 10c).

A dormência das sementes de *C. brasiliense* tem forte regulação pela concentração de ácido abscísico no embrião. O armazenamento promove a diminuição dos níveis de ácido abscísico no embrião, constatado pela redução do seu teor e da expressão de genes associado à biossíntese do ABA (Fig. 8, 9, 10b). As alterações fisiológicas mais frequentes na pós-maturação são a redução do ABA, o aumento da

sensibilidade às GAs e o balanço favorável à germinação entre GA_s e ABA (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006; Baskin e Baskin, 2014). Essas alterações podem ser reguladas por quantidades adequadas de peróxido de hidrogênio, que funcionam como moléculas de sinalização (Baillly 2019). A regulação dessa substância é controlada pelo sistema antioxidante celular (El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2013; Wojtyla *et al.*, 2016), que, no curto período de armazenamento das sementes de pequi, até 60 dias, manteve o nível de peróxido de hidrogênio como uma sinalização oxidativa que reduz a dormência e promove a germinação (Fig. 10c).

A variação no teor de ABA está associada diretamente às alterações da expressão dos genes ABA1, NCED4 e NCED9, que codificam a síntese de compostos da rota de biossíntese do hormônio (Qin e Zeevaart, 2002; Finkelstein *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2020). O gene ABA1, expresso na plúmula e radícula, apresenta maiores valores nas duas épocas iniciais de armazenamento. A expressão deste gene também foi verificada em outro estudo durante o desenvolvimento de sementes de *C. brasiliense* (Rodrigues *et al.*, 2020). O ABA1 tem a função de codificar a enzima zeaxantina epoxidase, a primeira na biossíntese de ABA (Audran *et al.*, 2001; Chao *et al.*, 2014), tendo papel importante na regulação do acúmulo de ABA ao longo do desenvolvimento das sementes (Seoand Koshiba, 2002; Chao *et al.*, 2014). Os genes NCED4 e NCED9 também são expressos de forma significativa nas sementes recém-dispersa e nas duas extremidades do embrião, porém em níveis mais altos no pólo radicular, como observado no estudo com *Paris polyphylla var. yunnanensis*, (Qi *et al.*, 2013). Entretanto, durante o desenvolvimento da semente de pequi somente há atividade destes genes no polo radicular e na fase final de formação do embrião (Rodrigues *et al.*, 2020). Isso indica que o polo radicular é uma importante região de síntese hormonal em sementes de *C. brasiliense*. Os NCEDs pertencem a uma pequena família multigênica e são responsáveis pela codificação de síntese de enzimas, especialmente 9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase, que atua na rota final de biossíntese do ABA, levando a maturação e a indução da dormência em sementes (Lefebvre *et al.*, 2006; Frey *et al.*, 2004).

Apesar de restringir o tempo de semeio, o uso de um curto período de armazenamento e da semente isolada de pequi proporciona rápida e elevada taxa de germinação, o que abre possibilidades de estudos que investiguem protocolos para pré-germinação em larga escala da espécie. O ABA, além de ser um hormônio ligado a manutenção dormência, também atua em rotas de síntese e degradação influenciada pelo estresse oxidativo, podendo ainda atuar na eficiência do sistema antioxidante (Ozfidan *et al.*, 2012). Nossos resultados indicam que *C. brasiliense* possui capacidade de resistência ao estresse oxidativo, porém, por período de armazenamento limitado, evidenciado pelo aumento das concentrações de H₂O₂ e das atividades das enzimas do sistema antioxidante, a qual atua na prevenção do estresse oxidativos (Fig. 10b-c).

4.6 Conclusões

As sementes recém-dispersas e armazenadas até 60 dias possuem baixa capacidade de germinação em função da sua dormência. A dormência em sementes de *C. brasiliense* está associada a altos teores de ABA no embrião. O armazenamento reduz a dormência, por meio da diminuição da expressão dos genes ABA1, NCED4 e NCED9 e dos níveis de ABA, além do aumento da sensibilidade a giberelinas. Após 60 dias de armazenamento, eleva-se a taxa de deterioração das sementes. A perda da viabilidade é causada pelo estresse oxidativo e consequente peroxidação lipídica, indicada pelo excessivo

conteúdo de peróxido de hidrogênio, MDA e perda da funcionalidade das membras. O sistema enzimático antioxidante é eficiente no curto prazo, permitindo o uso das EROS como sinalizadoras nas vias de superação da dormência, mas ineficiente, a longo prazo (baixa atividade de catalase), tornando as sementes vulneráveis à deterioração. A pós-maturação das sementes de *C. brasiliense* por 40-60 dias e o uso de GA₃ neste período são eficientes para superação da dormência e podem ser úteis para a propagação desta importante frutífera do Cerrado.

4.7 Literatura Citada

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV E. The effect of drought and ultravioletradiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environ**, n. 24, 2001, p. 1337-1344.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental botany**, n. 53, 2002, p. 1331-1341.

ARALDI, C. G.; COELHO, C. M. M.; GAZIOLA, S. A.; AZEVEDO, R. A. Storage elicits a fast antioxidant enzyme activity in *Araucaria angustifolia* embryos. **ActaPhysiologiaePlantarum**, n. 38, 2016, p. 1-10.

AUDRAN. C.; LIOTENBERG, S.; GONNEAU, M.; NORTH, H.; FREY, A.; TAP-WAKSMAN, K.; VARTANIAN, N.; MARION-POLL, A. Localisation and expression of zeaxanthin epoxidase mRNA in *Arabidopsis* in response to drought stress and during seed development. **Functional Plant Biology**, n. 28, 2001, p. 1161-1173.

BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed science research**, n. 14, 2004, p. 93-107.

BAILLY, C. The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. **Biochemical Journal**, n. 476, 2019, p. 3019-3032.

BAILLY, C.; BOGATEK-LESZCZYNSKA, R.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. **Seed Science Research**, n. 12, 2002, p. 47-55.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptesrendusbiologies**, n. 331, 2008, p. 806-814.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. D. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **CiênciaRural** 44, 2014, p. 453-460.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. **Academic Press**, San Diego, California, USA, 2014.

BATISTA, F. O.; DE SOUSA, R. S. Compostos bioativos em frutos pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) E baru (*Dipteryx alata* Vogel) e seus usos potenciais: uma revisão/Bioactive compounds in fruits pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) E baru (*Dipteryx alata* Vogel) and their potential uses: a review. **Brazilian Journal of Development**, n. 5, 2019, p. 9259-9270.

BENTSINK, L.; JOWETT, J.; HANHART, C. J.; KOORNNEEF, M. Cloning of DOG1, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis*. **ProcNatlAcadSci**, n. 103, 2006, p. 17042-17047.

BERNARDES, T. G.; NAVES, R. V.; REZENDE, C. F. A.; BORGES, J. D.; CHAVES, L. J. Propagação sexuada do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) estimulada por ácido giberélico. **PesquisaAgropecuária Tropical**, n. 38, 2008, p. 71-77.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAK, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Springer: New York, 2013.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Plano de Ação para Prevenção e Controle do Desmatamento e das Queimadas no Cerrado: PPCerrado**. Brasília, 2009.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiol. Plant.**, n. 83, 1991, p. 463-468

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and molecular biology**, n. 39, 2016, p. 1-6.

CHAO, W. S.; DOĞRAMACI, M.; ANDERSON, J. V.; FOLEY, M. E.; HORVATH, D. P. The resemblance and disparity of gene expression in dormant and non-dormant seeds and crown buds of leafy spurge (*Euphorbia esula*). **BMC Plant Biol**, 14216, 2014.

CHAVES, T. H.; RESENDE, O.; SIQUEIRA, V. C.,; ULLMANN, R. Qualidade fisiológica das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) durante o armazenamento em três ambientes. **Semina: Ciências Agrárias**, n. 33, 2012, p. 1653-1662.

CHHABRA, R.; SINGH, T. SEED AGING, Storage and Deterioration: An Irresistible Physiological Phenomenon. **Agricultural Reviews**, n. 40, 2019, p. 234-238.

COSTA, L. M.; RESENDE, O.; GONÇALVES, D. N.; SOUSA, K. A. Qualidade dos frutos de crambe durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, n. 34, 2012, p. 239-301.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany**, n. 109, 2015, p. 212-228.

DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; ALVES, J. M. C.; SANTOS, B. R.; NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, P. D. D. O.; BARBOSA, S. Métodos para a superação da dormência fisiológica de Caryocar brasiliense Camb. **Cerne**, n. 16, 2010, p. 131-135.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. **Plant signaling & behavior**, n. 3, 2008, p. 175-182.

ERICKSON, T. E.; MUÑOZ-ROJAS, M.; KILDISHEVA, O. A.; STOKES, B. A.; WHITE, S. A.; HEYES, J. L.; MERRITT, D. J. Benefits of adopting seed-based technologies for rehabilitation in the mining sector: a Pilbara perspective. **Australian Journal of Botany**, n. 65, 2017, p. 646-660.

FERRAZ, D.; RAMALHO, W. P.; VALE, L. S. R. Methods for overcoming dormancy and seed storage of *Enterolobium contortisiliquum*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, 2019, p. 2-8.

FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New phytologist**, n. 171, 2006, p. 501-523.

FINKELSTEIN, R.; REEVES, W.; ARIIZUMI, T.; STEBER, C. Molecular aspects of seed dormancy. **Annual Review of Plant Biology**, n. 59, 2008, p. 387-415.

FREY, A.; GODIN, B.; BONNET, M.; SOTTA, B.; MARION-POLL, A. Maternal synthesis of abscisic acid controls seed development and yield in *Nicotiana glauca*. **Planta**, n. 218, 2004, p. 958-964.

GAO, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, D.; DAI, X.; ESTELLE, M.; ZHAO, Y. Auxin binding protein 1 (ABP1) is not required for either auxin signaling or Arabidopsis development. **Proc Natl Acad Sci**, n. 112, 2015, p. 2275-2280.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, n. 59, 1977, p. 309-314.

GIROLDO, A. B.; SCARIOT, A. Land use and management affects the demography and conservation of an intensively harvested Cerrado fruit tree species. **Biological Conservation**, n. 191, 2015, p. 150-158.

HOSSEL, C.; JÚNIOR, A. W.; HOSSEL, J. S. A. D. O.; FABIANE, K. C.; DALLAGO, A.; VOSS, L. C. Viabilidade de sementes de jabuticabeira açu em função da condição e período de armazenamento.

Colloquium Agrarian, n. 15, 2019, p. 88-96.

JOB, C.; RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; BELGHAZI, M.; JOB, D. Patterns of protein oxidation in Arabidopsis seeds and during germination. **Plant Physiology**, n. 138, 2005, p. 790-802.

KETENOGLU, O.; KIRALAN, M.; RAMADAN, M. F. Cold pressed pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil. Cold Pressed Oils. **Academic Press**, 2020, p. 365-372.

KHAN, A. M.; ALI, S. S.; SIDDIQUI, S. A.; JATOI, A. S.; GHAFOR, A. Effect of various temperatures and duration on deterioration of rice seeds. **Science Technology and Development**, n. 36, 2017, p. 79-83.

KHAN, M. H.; PANDA, S. K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. **Acta Physiologiae Plantarum** n. 30, 2008, p. 81-89.

KIBINZA, S.; BAZIN, J.; BAILLY, C.; FARRANT, J. M.; CORBINEAU, F.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, n. 181, 2011, p. 309-315.

KRANNER, I.; MINIBAYEVA, F. V.; BECKETT, R. P.; SEAL, C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, n. 188, 2010, p. 655-673.

LEÃO, É. F.; PEIXOTO, N.; MORAIS JÚNIOR, O. P. D. Emergência de plântulas de pequi em função da planta matriz e uso de ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, n. 42, 2012, p. 416-423.

LEFEBVRE, V.; NORTH, H.; FREY, A.; SOTTA, B.; SEO, M.; OKAMOTO, M.; NAMBARA, E.; MARION-POLL, A. Functional analysis of Arabidopsis NCED6 and NCED9 genes indicates that ABA synthesized in the endosperm is involved in the induction of seed dormancy. **Plant J** n. 45, 2006, p. 309-319.

LEPERLIER, C.; RIVIERE, J. N. E.; ALLIBERT, A.; DESSAUW, D.; LACROIX, S.; FOCK-BASTIDE, I. Overcoming dormancy and light requirements in seeds of *Heteropogon contortus*, a target species for savanna restoration. **Ecological engineering**, n. 122, 2018, p. 10-15.

LIU, X.; HU, P.; HUANG, M.; TANG, Y.; LI, Y.; LI, L.; HOU, X. The NF-YC-RGL2 module integrates GA and ABA signalling to regulate seed germination in Arabidopsis. **Nature Communications**, n. 7, 2016, p. 1-14.

LIU, Y.; KOORNNEEF, M.; SOPPE, W. J. J. The absence of histone H2B monoubiquitination in the Arabidopsis hub1 (*rdo4*) mutant reveals a role for chromatin remodeling in seed dormancy. **Plant Cell**, n. 19, 2007, p. 433-444.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. **Methods**, n. 25, 2001, p. 402-408.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science** n. 2, 1962, p. 176-177.

MENDES, D. S. **Dormência, germinação e longevidade em sementes de pequi (Caryocar brasiliense Camb.)**. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, 2015, p. 50.

MITTLER, R. Estresse oxidativo, antioxidantes e tolerância ao estresse. **Tendências em Ciência das Plantas**, n. 7, 2002, p. 405-410.

MÜLLER, M. L.; MUNNÉ-BOSCH, S. Rapid and sensitive hormonal profiling of complex plant samples by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Plant Methods**, n. 7, 2011, p. 37.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiol**, n. 22, 1981, p. 867-880.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination—still a mystery. **Plant Science**, n. 179,

2010, p. 574-581.

QI, J.; ZHENG, N.; ZHANG, B.; SUN, P.; HU, S.; XU, W.; MA, Q.; ZHAO, T.; ZHO. L.; QIN. M.; LI, X. Mining genes involved in the stratification of Paris Polyphylla seeds using high-throughput embryo Transcriptome sequencing. **BMC genomics**, n. 14, 2013, p. 1-14.

QIN, X.; ZEEVAART, J. A. Overexpression of a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in Nicotianaplumbaginifolia increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plantphysiology*, n. 128, 2002, p. 544-551.

REIS, A. F.; SCHMIELE, M. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 22, 2019.

RODRIGUES, I. V.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; MARTINS, C. D. P. S.; VIEIRA F. R.; SILVÉRIO, F. O. Fruit Development and ABA Biosynthesis During Caryocarbrasiliense (Caryocaraceae) Seed Maturation. **JournalofPlantGrowthRegulation**, n. 39, 2020, p. 981-993.

SCHWEMBER, A. R.; BRADFORD, K. J. Locos de caracteres quantitativos associados à longevidade de sementes de alface em condições de armazenamento convencional e deterioração controlada. **Journal of experimental botany**, n. 61, 2010, p. 4423-4436.

SEO, M.; AOKI, H.; KOIWAI, H.; KAMIYA, Y.; NAMBARA, E.; KOSHIBA, T. Comparative studies on the Arabidopsis aldehyde oxidase (AAO) gene family revealed a major role of AAO3 in ABA biosynthesis in seeds. **Plant and cell physiology**, n. 45, 2004, p. 1694-1703.

SEO, M.; HANADA, A.; KUWAHARA, A.; ENDO, A.; OKAMOTO, M.; YAMAUCHI, Y.; NAMBARA, E. Regulation of hormone metabolism in Arabidopsis seeds: phytochrome regulation of abscisic acid metabolism and abscisic acid regulation of gibberellin metabolism. **The Plant Journal**, n. 48, 2006, p. 354-366.

SEO, M.; KOSHIBA, T. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. **Trends Plant Sci**, n. 7, 2002, p. 41-48.

SHARMA, S. N.; MAHESHWARI, A.; SHARMA, C.; SHUKLA, N. Gene expression patterns regulating the seed metabolism in relation to deterioration/ageing of primed mung bean (*Vignaradiata* L.) seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 124, 2018, p. 40-49.

SILVA, D. D.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; HELM. C.; ANGELO, A. C. Influence of seed storage conditions on quality of *Torreseaacrea* seedlings. **Cerne**, n. 25, 2019, p. 60-67.

SOUSA, Â. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; ANDRADE, M. S.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O. Structural aspects of germination control in pyrenes of *Caryocarbrasiliense* (Caryocaraceae). **Trees**, n. 31, 2017b, p. 887-902.

SOUSA, Â. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANTIAGO, T. A.; LACERDA, V. R.; MARTINS, C. P. S. Germination and storage of *Caryocarbrasiliense* seeds. **Seed Science and Technology**, n. 45, 2017a, p. 557-569.

TAN, B. C.; JOSEPH, L. M.; DENG, W. T.; LIU, L.; LI, Q. B.; CLINE, K.; MCCARTY, D. R. Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase gene family. **The Plant Journal**, n. 35, 2003, p. 44-56.

TUAN, P. A.; KUMAR, R.; REHAL, P. K.; TOORA, P. K.; AYELE, B. T. Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. **Frontiers in plant Science**, n. 9, 2018, p. 668.

VARJOVI, M. B.; VALIZADEH, M.; BANDEHAGH, A. Primary antioxidant enzymes and their important role in oxidative stress in plants and mammalian. **Biological Forum - An International Journal**, n. 7, 2015, p. 148-154.

VIJAY, K.; LOKESH, G. Y.; BASAVE, G.; PATIL, S. B.; GANIGER, B. S.; RAKESH, C. M. Accelerated

ageing test to study the relative storage potential of hybrid sunflower-RSFH-130 (*Helianthus annuus*). **African Journal of Agricultural Research**, n. 10, 2015, p. 3502-3506.

WANG, Z.; CAO, H.; SUN, Y.; LI, X.; CHEN, F.; CARLES, A.; LI, Y.; DING, M.; ZHANG, C.; DENG, X.; SOPPE, W. J.; LIU, Y. X. Arabidopsis paired amphipathic helix proteins SNL1 and SNL2 redundantly regulate primary seed dormancy via abscisic acid-ethylene antagonism mediated by histone deacetylation. **Plant Cell**, n. 25, 2013, p. 149-166.

WASZCZAK, C.; CARMODY, M.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species in plant signaling. **Annual review of plant biology**, n. 69, 2018, p. 209-236.

WATERWORTH, W. M.; BRAY, C. M.; WEST, C. E. Seeds and the art of genome maintenance. **Frontiers in Plant Science**, Reino Unido, 2019, p. 706.

WATERWORTH, W. M.; BRAY, C. M.; WEST, C. E. The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity. **Journal of Experimental Botany**, n. 66, 2015, p. 3549-3558.

WOJTYLA, Ł.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plantscience**, n. 7, 2016, p. 66-75.

5 ARTIGO**Disponibilidade hídrica, estabelecimento e desenvolvimento inicial de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)**

Elaborado nas normas da revista *Restoration Ecology Journal*.

**Disponibilidade hídrica, estabelecimento e desenvolvimento inicial de *Caryocar brasiliense*
(*Caryocaraceae*)**

RESUMO

Em ambientes sazonais, o ajuste das estratégias reprodutivas e padrões de desenvolvimento inicial das plantas à disponibilidade hídrica é fundamental para a manutenção das populações naturais. O conhecimento sobre mecanismos adaptativos à sazonalidade é importante para a conservação e domesticação de espécies de interesse. Objetivou-se avaliar a influência da disponibilidade hídrica sobre o estabelecimento e desenvolvimento de plântulas de *Caryocar brasiliense*, árvore frutífera endêmica do bioma Cerrado e importante economicamente. Avaliou-se o efeito da disponibilidade hídrica (por meio de irrigação) e do tempo (seis avaliações), ao longo de um ano, sobre a germinação de pirênios (endocarpo + semente), sobrevivência e morfologia das plântulas e anatomia do hipocótilo (estrutura caulinar subterrânea). A irrigação favorece a emergência das plântulas e o desenvolvimento do caule, folhas e raízes (estas nas fases finais de avaliação). No entanto, o desenvolvimento das plantas é maior na estação úmida/quente, independentemente do uso de irrigação. O hipocótilo é persistente, tem crescimento secundário influenciado positivamente pela disponibilidade hídrica e constitui estrutura de resistência, acumulando e disponibilizando amido. As plântulas e plantas jovens de *C. brasiliense* são notavelmente resistentes à seca, contando como mecanismos adaptativos o comportamento decíduo, o desenvolvimento do hipocótilo como estrutura de reserva e o sistema radicular profundo. No entanto, a irrigação favorece o estabelecimento e o desenvolvimento inicial na espécie, o que é importante para a implantação de cultivos, bem como a recuperação de áreas degradadas.

Palavras-chave: Déficit hídrico. Germinação. Emergência de plântulas. Irrigação. Morfologia de plântulas. Pirênios.

Water availability, establishment and initial development of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)**ABSTRACT**

In seasonal environments, adjusting reproductive strategies and early plant development patterns to water availability is essential for maintaining natural populations. Awareness of adaptive mechanisms to seasonality is important for the conservation and domestication of species of interest. The objective was to evaluate the influence of water availability on the establishment and development of seedlings of *Caryocar brasiliense*, an economically-important fruit tree that is endemic to the Cerrado biome. The effect of water availability (through irrigation) and time (six evaluations) over the course of a year was evaluated on the germination of pyrenes (endocarp + seed), seedling survival and morphology as well as hypocotyl anatomy (subterranean stem structure). Irrigation favors the emergence of seedlings and the development of the stem, leaves and roots (in final stages of evaluation). However, plant development is greater in the wet/hot season, regardless of the use of irrigation. The hypocotyl is persistent, has secondary growth positively influenced by water availability and constitutes a resistance structure, accumulating and making starch available. Seedlings and young plants of *C. brasiliense* are remarkably resistant to drought, with deciduous behavior, the development of the hypocotyl as a reserve structure, and the deep root system as adaptive mechanisms. However, irrigation favors the establishment and initial development of the species, which is important for the implementation of crops and the recovery of degraded areas.

Keywords: Water deficit. Germination. Seedling emergence. Irrigation. Seedling morphology. Pyrenees.

5.1 Introdução

Caryocar brasiliense (Camb.), ou pequiizeiro, é uma árvore frutífera endêmica do Cerrado brasileiro. Os frutos oleaginosos da espécie são consumidos in natura e utilizados na indústria alimentícia e cosmética, o que impacta positivamente a economia das populações tradicionais (Guedes et al. 2017). O pequiizeiro tem também importância ecológica, pois fornece alimento para a fauna e pode ser utilizado na recuperação de áreas degradadas (Rodrigues et al., 2020). Por outro lado, a expansão agrícola no Cerrado, o extrativismo intensivo dos frutos e a dificuldade da reprodução natural, têm colocado a espécie em risco, justificando a implantação de projetos para seu cultivo.

A produção de mudas de pequiizeiro é importante para a domesticação e conservação da espécie, porém enfrenta dificuldades em função da dormência (bloqueio da germinação) de seus diásporos (pirênios: sementes envolvidas pelo endocarpo) (Sousa et al., 2017a; Rodrigues et al., 2020). A dormência na espécie está relacionada à presença de endocarpo rígido que limita o crescimento do embrião, associada ao desbalanço entre os hormônios giberelinas e ácido abscísico (Sousa et al., 2017a; Rodrigues et al., 2020). Apesar de existirem alguns métodos para a superação da dormência dos diásporos de pequiizeiro em condição de laboratório e viveiro, envolvendo o armazenamento e a aplicação de giberelinas (Dombroski et al., 2010; Sousa et al., 2017a, b; Lacerda et al., 2022), são escassas as informações sobre a superação da dormência e o estabelecimento das plântulas em condições ambientais (Pajehú, 2018; Costa et al., 2022).

A absorção de água marca o início da germinação (Bewley et al., 2013) e a disponibilidade hídrica é um fator chave para o controle do processo em ambientes sazonais, como o Cerrado (Baskin e Baskin 2014; Ribeiro et al., 2021). Além disso, a tolerância dos embriões da maioria das sementes (denominadas ortodoxas) à desidratação é perdida após a conclusão da germinação, o que limita o estabelecimento das plântulas (Bewley et al., 2013). No caso de plantas do Cerrado, sabe-se que a germinação, a emergência, a sobrevivência e o crescimento das plântulas são restringidos sob condições de déficit hídrico, temperaturas elevadas e o fogo, o que é particularmente importante, considerando-se, além da sazonalidade, a irregularidade do regime pluviométrico e as variações térmicas (Hoffmann, 2000; Oliveira et al., 2005; Salazar e Goldstein, 2014; Silva et al., 2015; Pellizzaro et al., 2017; Ribeiro et al., 2021; Chaid et al., 2023). As sementes do pequiizeiro são ortodoxas e as plantas adultas são notavelmente resistentes ao déficit hídrico e temperaturas elevadas (Sousa et al., 2017b), no entanto, existem evidências da sensibilidade das plântulas, o que afeta a emergência, a sobrevivência e o desenvolvimento (Sousa et al., 2017b; Pajehú, 2018; Gonçalves, 2019; Scalón et al., 2020). Neste contexto, a investigação sobre o efeito da disponibilização de água suplementar, via irrigação, durante as estações do ano, no estabelecimento das plântulas do pequiizeiro, pode fornecer informações interessantes sobre a relação da espécie com o ambiente e para o desenvolvimento de tecnologias de cultivo, como tem sido apontado para outras espécies do Cerrado (Matos et al., 2018; Garcia-Nunes et al., 2019; Chaid et al., 2023).

A maioria das espécies nativas do Cerrado possui crescimento lento, devido ao maior investimento em órgãos subterrâneos (raízes e estruturas de resistência), sendo o balanço entre as partes aérea/subterrânea um importante fator adaptativo ao clima sazonal (Saboya e Borghetti, 2012; Silva et al., 2015; Pellizzaro et al., 2017; Passaretti et al., 2019; Chaib et al., 2023; Terra et al., 2023). Outra estratégia fenológica de sobrevivência é a perda completa ou parcial da parte aérea durante o período seco, com a produção de novas brotações a partir de estruturas subterrâneas no início do período chuvoso (Oliveira e

Silva, 1993; Franco *et al.*, 2005; Salazar e Goldstein, 2014; García-Núñez *et al.*, 2019). O hipocótilo de *C. brasiliense* desenvolve um órgão subterrâneo, possivelmente envolvido no armazenamento de reservas (Barradas, 1973; Sousa *et al.*, 2017a). No entanto, não existem na literatura estudos sobre o desenvolvimento pós-plantio do hipocótilo na espécie, assim como o ciclo foliar e o balanço das partes aérea/subterrânea. O estudo desses aspectos poderá contribuir para ampliação dos conhecimentos botânicos sobre *C. brasiliense* e fornecer subsídios para programas de domesticação da espécie e sua utilização na recuperação de áreas degradadas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da disponibilidade hídrica, via irrigação, ao longo de um ano, sobre a germinação de pirênios, sobrevivência e desenvolvimento de plântulas de *C. brasiliense*. Procurou-se responder as seguintes questões: (I) *qual a influência da disponibilidade hídrica na germinação e desenvolvimento de plântulas de pequiheiro ao longo de duas estações no Cerrado?* (II) *quais os papéis do hipocótilo, do ciclo foliar e do balanço entre as partes aérea/subterrânea no desenvolvimento e relação da planta com o ambiente?*

5.2 Métodos

5.2.1 Material vegetal e procedimentos iniciais

Frutos maduros de *Caryocar brasiliense* foram coletados após a abscisão natural, no mês de janeiro 2018, em aproximadamente 100 plantas, no município de São João da Lagoa, norte do estado de Minas Gerais, Brasil (16°46'42"S; 44°18'24"W). O exocarpo e os mesocarpo externo e interno foram retirados manualmente, com auxílio de uma faca, e os pirênios (semente envolvida pelo endocarpo). Os pirênios foram armazenados por 30 dias em local sombreado e arejado, com temperatura e umidade relativa do ar, variando, respectivamente, entre 20,79 e 34,02 °C e 50 a 80% (INMET, 2021). Antes e após armazenamento, amostras de 100 pirênios foram coletadas, extraindo-se as sementes por meio de motoesmeril, torno de bancada e alicate de bico com abertura invertida e com uma chapa de metal na ponta (Mendes, 2015). As sementes que apresentaram má-formação, enegrecidas, pequenas, murchas, danos ocasionados por insetos, ou inconsistentes foram contabilizadas como visualmente inviáveis e descartadas. As sementes sem danos aparentes foram avaliadas quanto ao teor de água, pelo método da estufa, com cinco repetições de 10 sementes a 105°C por 24 horas (Brasil, 2009).

Após o armazenamento, os pirênios foram embebidos por imersão em água, por 10 dias, com troca diária da água. Em seguida, os pirênios foram imersos em solução de 125 mg/L de ácido giberélico (GA₃) por quatro dias para a superação da dormência (Mendes, 2015).

5.2.2 Instalação e condução do experimento

Os pirênios foram semeados em canteiro com altura de 30 cm e largura 1,08 m, no setor de fruticultura do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da UFMG em Montes Claros - MG (16°68'20"S; 43°83'96"W). O canteiro foi preenchido com solo oriundo de áreas do Cerrado *sensu stricto*. O Clima da região é tropical, classificado como Aw segundo Köppen e Geiger, com uma estação seca bem definida, associada aos meses mais frios, temperatura média anual de 23,1°C e pluviosidade total anual de 1.086,4 mm (Climate-data.org, 2018; INMET, 2021).

Os pirênios foram semeados, em fevereiro de 2018, no espaçamento de 2 x 2 cm e a 5 cm de profundidade. Metade dos pirênios foi irrigada ao longo de todo o período do experimento (um ano), enquanto o restante não recebeu irrigação. Na condição inicial (fevereiro de 2018) e após 80, 120, 180, 240, 300 e 365 dias pós-semeio (meses de maio, junho, agosto, outubro, dezembro de 2018 e fevereiro de 2019), cinco repetições de 60 pirênios, escolhidas de forma aleatória, foram coletadas para avaliações.

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado, dispostos, em parcelas subdivididas, com cinco repetições. As parcelas foram constituídas pela presença ou não da irrigação, enquanto as subparcelas, pelas seis épocas de avaliação.

As temperaturas máxima, média e mínima, bem como a precipitação, foram coletadas mensalmente, durante todo o experimento, no período de janeiro de 2018 a fevereiro de 2019, obtidas no banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, na estação 83437, localizada na Universidade Federal de Minas Gerais, *campus* Montes Claros, a 200 metros do experimento (Figura 1). A estação seca ocorreu nos meses de abril a setembro no ano de 2018. As temperaturas máximas e mínimas oscilaram entre 34° e 14° C, com maiores precipitações nos meses de fevereiro (333,9 mm) e dezembro (183,6 mm) de 2018 (INMET, 2021).

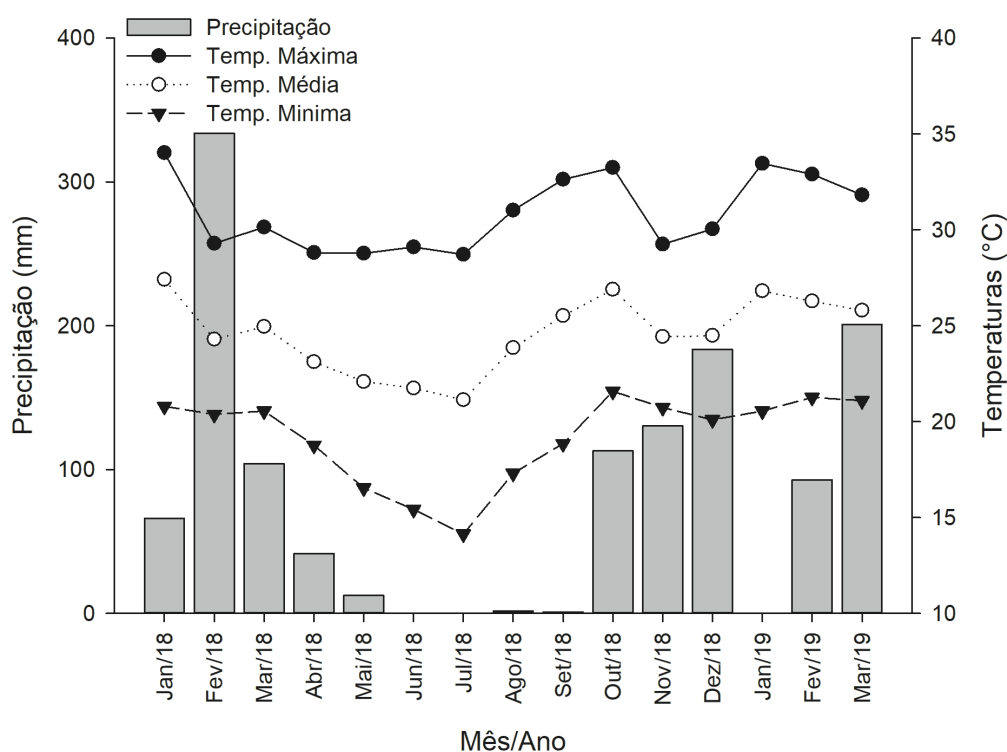


Figura 1. Temperaturas máxima (Temp. Máxima), média (Temp. Média) e mínima (Temp. Mínima) e precipitações mensais obtidas na base de dados do INMET da estação 83437, durante o período de janeiro de 2018 a março de 2019.

Nos primeiros 30 dias do semeio, todas as parcelas experimentais foram irrigadas, com o objetivo de garantir a germinação inicial e número de plântulas suficiente para avaliação na primeira época (80 dias pós-semeio). A irrigação foi uniforme, realizada diariamente, com base na evapotranspiração.

5.2.3 Avaliações da germinação e emergência de plântulas

Em todas as parcelas, diariamente, avaliou-se a emergência de plântulas. Foram consideradas emergidas as plântulas que atingiram um centímetro acima do solo. Em cada época de avaliação, 10 plântulas por parcela eram sorteadas e avaliadas quanto à biometria, anatomia e histoquímica. Também, em cada época, os pirênios das respectivas parcelas foram desenterrados e avaliados. Os pirênios que não possuíam parte aérea, mas sintomas de rachadura do endocarpo na região do hilo, intumescimento da semente e resquícios de protrusão da raiz e/ou plúmula foram considerados germinados (Souza *et al.*, 2017b). Os demais pirênios não germinados foram cortados, transversalmente, com auxílio de uma guilhotina e avaliados. Foram classificados como deteriorados aqueles com sementes amolecidas, atacadas por microrganismos e que não apresentavam nenhum sinal de início de germinação. Por outro lado, aqueles intumescidos e que, após retirada do tegumento, apresentavam coloração branca típica de semente viável, foram considerados não germinados (Brasil, 2009). Foram calculadas as seguintes características em percentual: emergência de plântulas, pirênios germinados, pirênios deteriorados, plântulas e sobrevivência de plântulas (razão entre número de plântulas existentes na parcela e número de pirênios germinados).

5.2.4 Avaliações biométricas

Em cada época de avaliação, foram mensurados a altura das plantas (cm), do colo até o ápice do caule, por meio de uma fita métrica e o diâmetro do colo ao nível do solo, com auxílio de um paquímetro digital (Stainlesshardened – Modelo Digital Galiper). A área foliar por planta foi determinada pelo fator entre o número de folhas totalmente expandidas e a área foliar, determinada por meio do comprimento das nervuras principais dos folíolos, com auxílio de régua graduada em milímetros (Oliveira *et al.*, 2002).

Para avaliação do sistema radicular foram feitas escavações manuais nas parcelas experimentais. O sistema radicular foi separado da parte aérea da planta e dividido em a raiz principal e raízes laterais. Avaliou-se as seguintes características das raízes principais: comprimento, com auxílio de uma fita métrica; diâmetro da maior raiz, com um paquímetro digital (Stainlesshardened – Modelo Digital Galiper); número de raízes; e volume das raízes, quantificado pelo deslocamento de água dentro de uma proveta graduada. As seguintes características foram avaliadas nas raízes laterais: número e volume das raízes, também quantificado pelo deslocamento de água dentro de uma proveta graduada. O volume total de sistema radicular foi mensurado pela soma das raízes primárias e secundárias.

Após a avaliação da biometria, o caule, as folhas, e as raízes primárias e secundárias, foram colocadas em sacos de papel, separadamente, identificados e colocados em estufa de circulação de ar forçada, Ética, modelo 400/7D a 65°C até atingirem o peso constante. Após a secagem, o material foi pesado em uma balança analítica, Bioprecisa, modelo FA2104N, obtendo o peso da massa seca do caule, das folhas, da raiz primária e secundária, do total da parte aérea, do sistema radicular e de toda a planta. Calculou-se, também, a relação entre comprimento da parte aérea da planta e da raiz primária, massa seca da parte aérea e sistema radicular e volume das raízes primária e secundária.

5.2.5 Avaliações anatômicas

Em cada época de avaliação, retirou-se amostras de seis plantas de cada tratamento (sem e com irrigação) para avaliação anatômica do hipocótilo. As amostras da região mediana da região dorsal do hipocótilo foram fragmentas sob lupa, com auxílio de lâmina de barbear, em cubos de aproximadamente 3 mm. Os fragmentos foram fixados em solução Karnovsky (Karnovsky, 1965), desidratados a vácuo (500 mmHg), por 24 horas, desidratados em série etílica e incluídas em resina metacrilato (Leica Microsystems, Heidelberg, Alemanha) (Paiva *et al.*, 2011). Foram obtidas secções transversais com 4 µm de espessura, utilizando-se micrótomo rotativo (Atago, Tóquio, Japão). As secções foram coradas com azul de toluidina em pH 4.7 e montadas em lâminas permanentes com resina acrílica (Itacril, Itaquaquecetuba, São Paulo, Brasil) (Paiva *et al.*, 2011). A documentação fotográfica foi realizada por meio de câmera digital acoplada à microscópio ótico (AxioScope A.1/Axiocam 105 color, Zeiss, Jena, Alemanha).

5.2.6 Análises estatísticas

Os dados biométricos foram submetidos à análise de variância e as médias da emergência de plântulas comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$), enquanto os outros dados foram ajustados aos modelos de regressão polinomial, até o nível de 5 % de probabilidade.

6. Resultados

6.1 Emergência

As sementes dos pirênios recém dispersos de *C. brasiliense* apresentaram, em média, 5% de deterioração e teor de água de 38%; estes valores se alteraram, respectivamente, para 12% e 7%, após, após 30 dias de armazenamento. A emergência de plântulas iniciou-se aos 30 dias após semeio, sem divergência entre os tratamentos com ou sem irrigação (Figura 2). Grande incremento na emergência foi verificado no segundo e terceiro mês pós-plantio, sendo maior para pirênios irrigados (53%), em relação aos não irrigados (33%). Após quatro meses de estabilidade (na época mais fria do ano, Figura 1), ocorreu um novo ciclo de emergência, o qual foi mais precoce e curto para os pirênios que receberam irrigação (entre agosto e setembro), em relação àqueles na condição de sequeiro (entre setembro e novembro). Ao final do período de avaliação, observou-se que a irrigação proporcionou maior emergência.

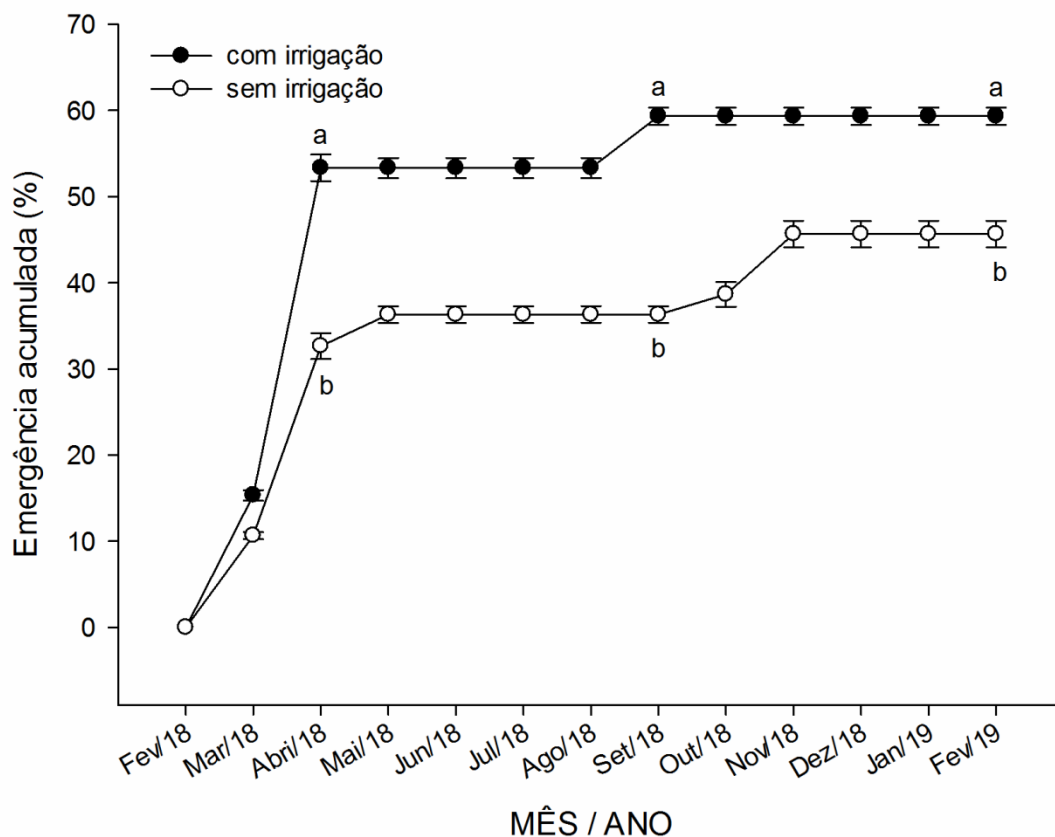


Figura 2. Emergência acumulada de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As letras diferentes indicam presença de diferença das médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais indicam o erro padrão da média.

6.2 Germinação e deterioração de sementes e quantidade e sobrevivência das plantas

Na avaliação da germinação dos pirênios não foi constatado efeito da interação entre tempo e irrigação, mas somente dos fatores, isoladamente. Após um ano do plantio, a irrigação proporcionou maior germinabilidade (55%) em relação aos pirênios na condição de sequeiro (44%), com aumento linear na germinação (Figura 3a). Além disso, a irrigação proporcionou maior número de plântulas (com parte aérea e raiz) em todos os tempos avaliados, com tendência de elevação ao longo do período, enquanto que na ausência de irrigação a tendência foi inversa (Figura 3b). A taxa de deterioração das sementes aumentou em ambos os tratamentos com o avanço do tempo, sem que houvesse diferença entre eles, a exceção do mês de dezembro (300 dias pós-plantio), com maior deterioração na condição sem irrigação (Figura 3c). Não houve efeito da interação entre os fatores também sobre a sobrevivência das plântulas, tendo as parcelas irrigadas (73%) comportamento superior as não irrigadas (59%), além de redução do número de plantas no período seco e estabilização no período chuvoso (Figura 3d).

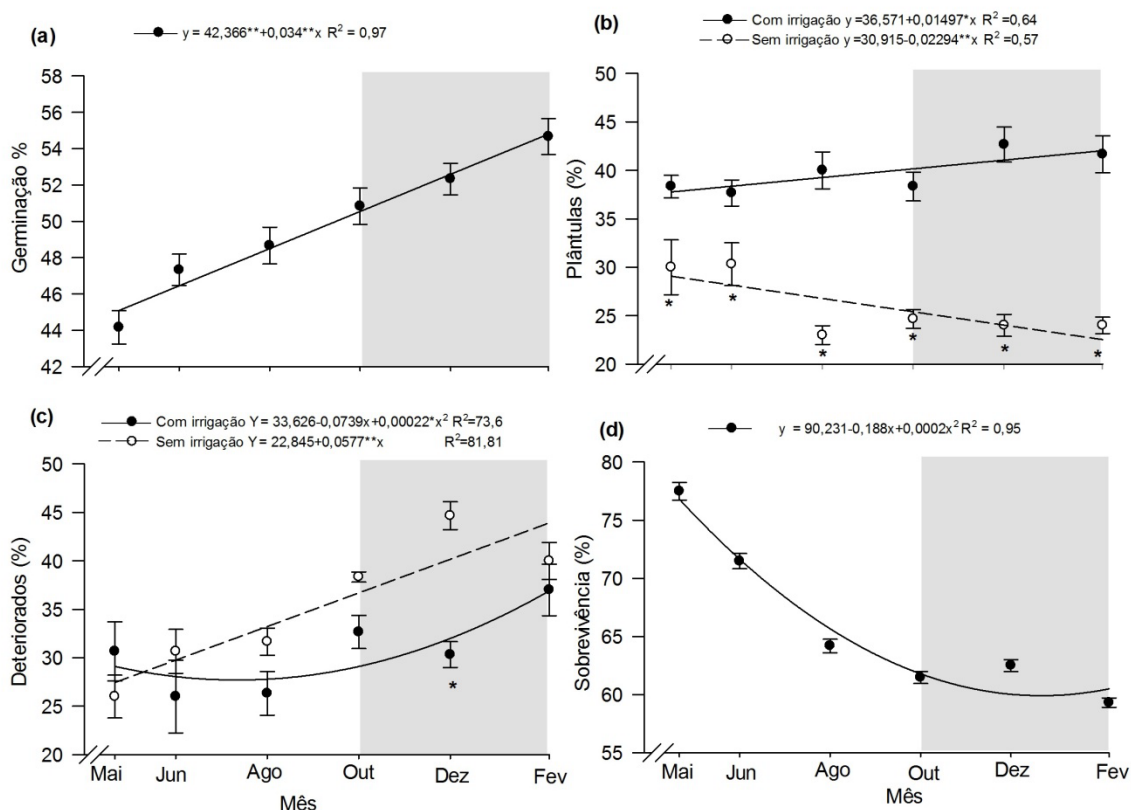


Figura 3. Percentual de pirênios germinados e deteriorados e de quantidade e sobrevivência de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica período seco do ano e a cinza o chuvoso.

6.3 Crescimento da parte aérea

Na maioria dos tempos avaliados, a irrigação proporcionou plantas com maiores comprimento e diâmetro do caule, número de folhas e área foliar (Figura 4a-d). Somente não ocorreram diferenças entre os tratamentos para o tamanho do caule e área foliar nas duas primeiras épocas de avaliação (80 e 120 dias pós-plantio, Figura 4a, d), e para o número de folhas em dezembro (Figura 4b). Durante o período seco, com temperaturas mais amenas (Figura 1), houve incremento restrito no crescimento vegetativo (Figura 4 a-b, d), inclusive, com decréscimo no número de folhas (Figura 4b, 9). Por outro lado, na época chuvosa e quente (quatro meses), a parte aérea teve crescimento exponencial, independentemente da irrigação.

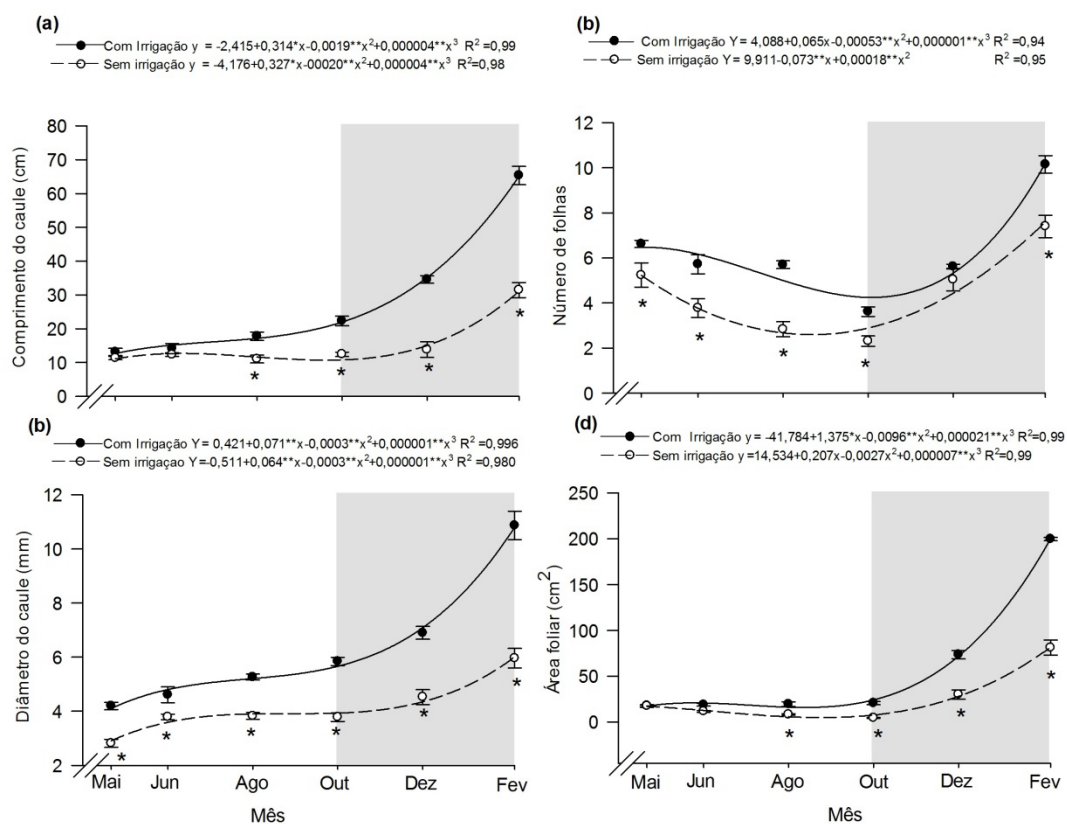


Figura 4. Comprimento do caule, diâmetro, número de folhas e estimativa da área foliar de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica período seco do ano e a cinza o chuvoso.

6.4 Crescimento do sistema radicular

Ao longo do período de avaliação, as plantas apresentaram poucas raízes primárias pivotantes, predominantemente uma por planta (Figura 9). Em geral, a irrigação teve efeito restrito sobre o desenvolvimento do sistema radicular no período seco (Figura 5a-f), com exceção do comprimento e diâmetro da raiz primária (Figura 5a, c). Por outro lado, a irrigação foi efetiva na promoção do desenvolvimento radicular no período chuvoso (Figura 5a-f), o qual também teve incremento nas plantas não irrigadas.

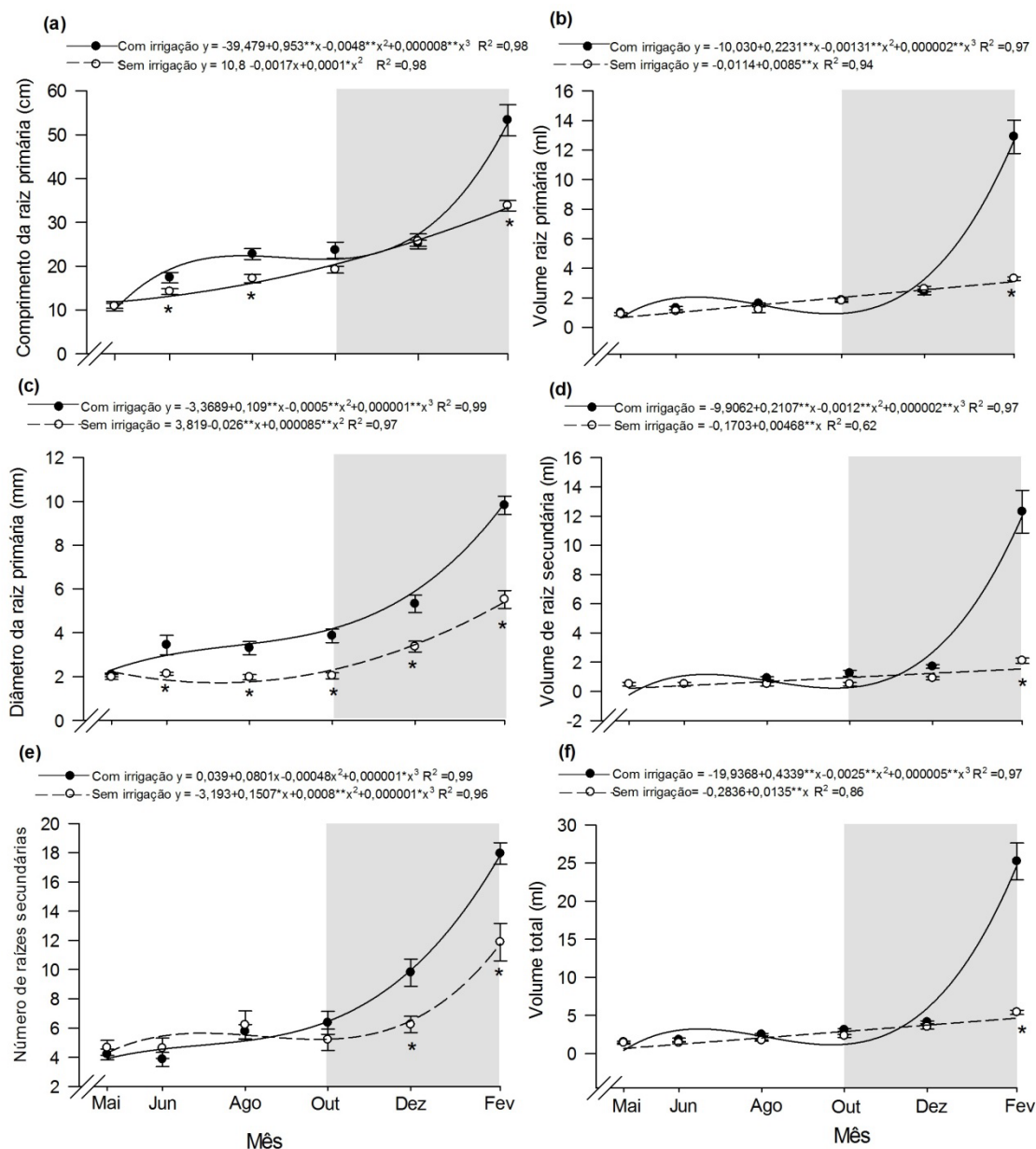


Figura 5. Comprimento, diâmetro e volume da raiz primária, número e volume da raiz secundária e volume total do sistema radicular de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica período seco do ano e a cinza o chuvoso.

6.5 Matéria seca da parte aérea e do sistema radicular.

A irrigação proporcionou maior acúmulo de matéria seca nas folhas e na planta inteira nas estações seca e chuvosa (Figuras 6c, e). No caso do caule, este efeito foi observado apenas no período chuvoso (Figura 6a). A irrigação proporcionou maior massa seca no sistema radicular apenas nos últimos meses da estação chuvosa (Figuras 6b, d-e). Em padrão semelhante ao observado para as outras características vegetativas, a matéria seca teve crescimento restrito na estação seca, independentemente do uso da água, com ganhos significativos na parte aérea, sistema radicular e planta inteira, especialmente entre os meses de dezembro a fevereiro.

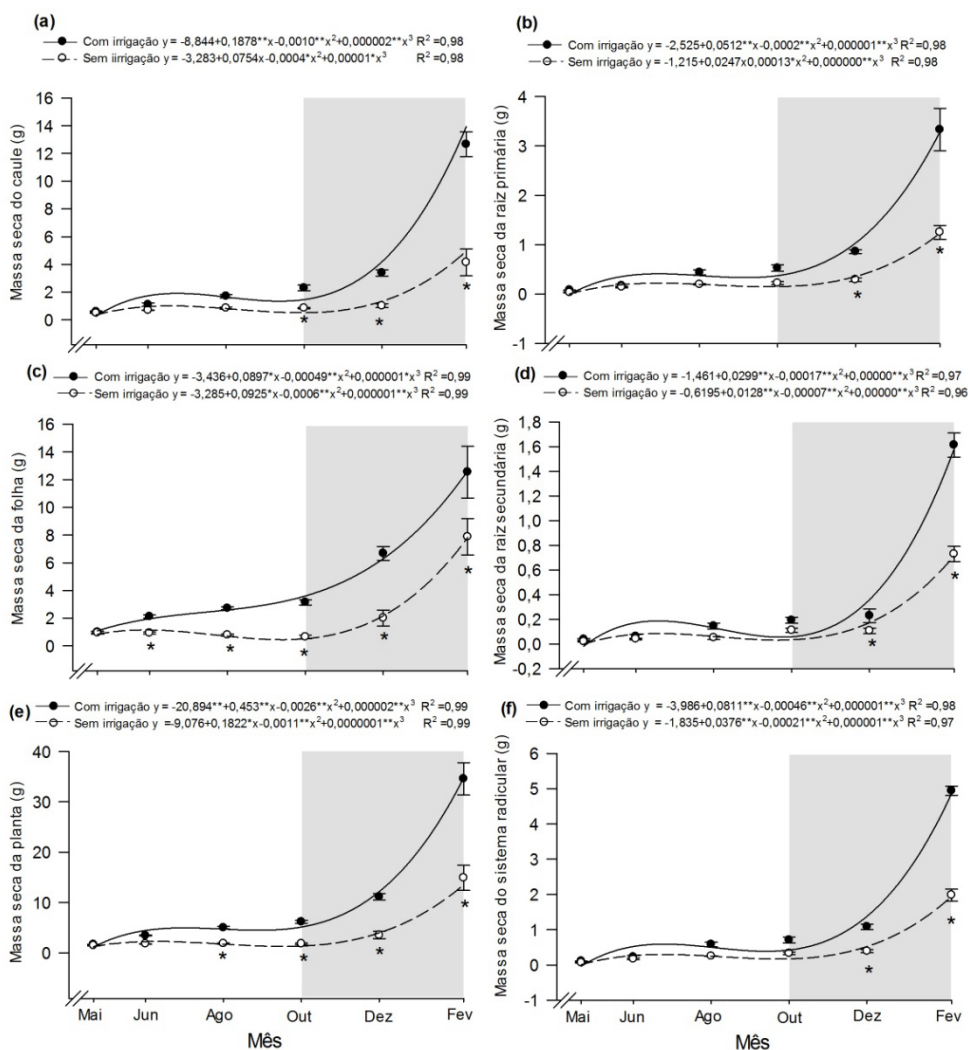


Figura 6. Massa seca do caule, das folhas, das raízes primárias e secundárias, da planta e do sistema radicular de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica período seco do ano e a cinza o chuvoso.

6.6 Balanço parte aérea/sistema radicular e sistema radicular primário/secundário.

Houve diminuição na relação caule/raiz primária ao longo da época seca, com inversão desta tendência mais precocemente nas plantas irrigadas (a partir de agosto) e, em outubro, para as plantas não irrigadas (Figura 7a). Plantas que receberam água tiveram maior razão comprimento do caule/raiz primária, entre os meses de outubro e fevereiro. A relação entre a matéria seca da parte aérea/sistema radicular diminuiu ao longo do tempo na presença de irrigação; na ausência de irrigação esta razão se reduziu drasticamente na estação seca, com aumento restrito na estação chuvosa (Figura 7b). A relação entre o volume da raiz primária/secundária aumentou até meados da estação chuvosa, com declínio nas plantas não irrigadas (Figura 7c). Já nas plantas irrigadas, ocorreu queda constante nessa relação. Em outubro e dezembro de 2018, a razão volume da raiz primária/secundária foi maior nas plantas não irrigadas.

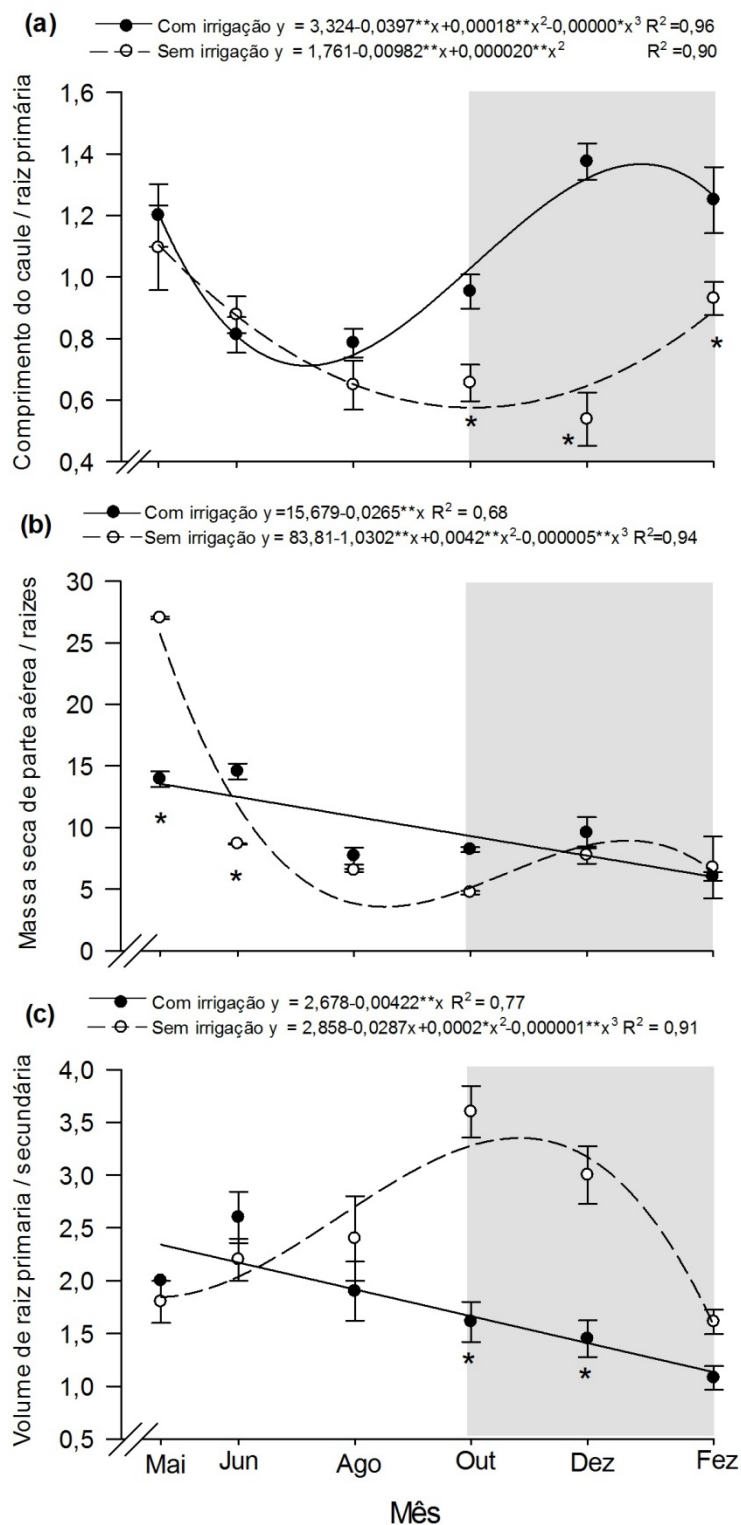


Figura 7. Relação do comprimento do caule e raiz primária, massa seca da parte aérea e sistema radícula, volume da raiz primária e secundária de plântulas de *C. brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃ e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica o período seco do ano e, a cinza, o chuvoso.

6.7 Desenvolvimento do hipocótilo

O hipocótilo se mostrou persistente em todos os tempos avaliados, independentemente do uso da água (Figura 9). Porém, de forma geral, houve diminuição das dimensões do hipocótilo durante a estação seca, seguido por aumento considerável na estação chuvosa (Figura 8a-c). As plantas irrigadas apresentaram hipocótilo com maiores diâmetros e larguras em todas os meses, com exceção de maio e dezembro (Figura 8a-b). O comprimento do hipocótilo não foi influenciado pela irrigação e teve aumento na estação chuvosa (Figura 8c).

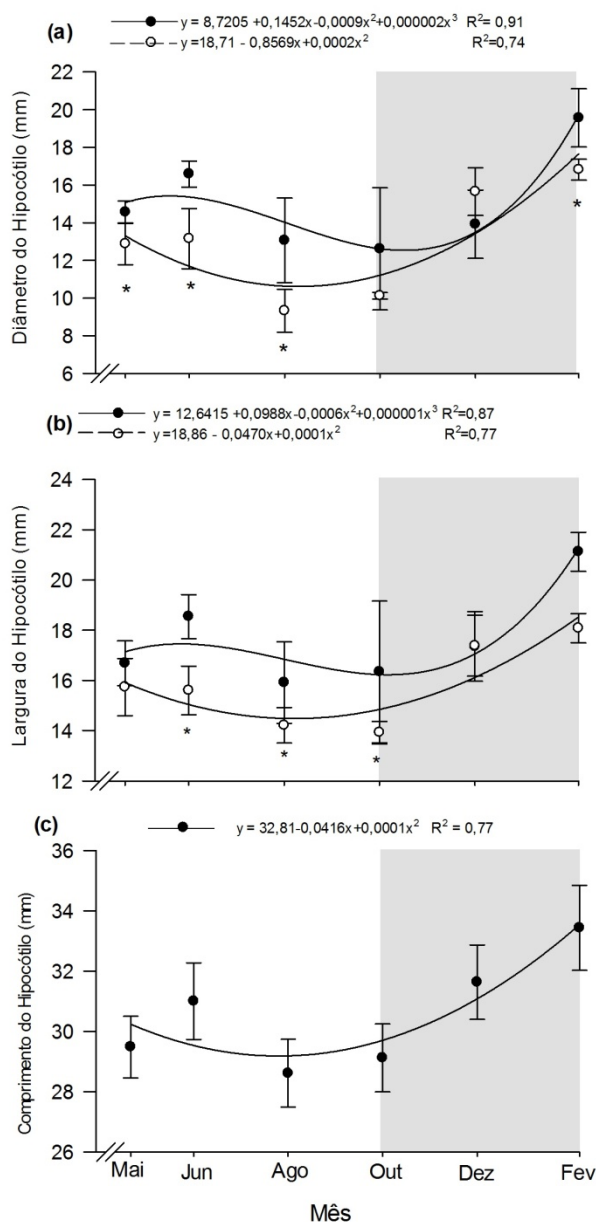


Figura 8. Diâmetro, largura e comprimento do hipocótilo de plântulas de *C. Brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA_3 e irrigados e não irrigados. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O asterisco representa diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A região branca do gráfico indica período seco do ano e a cinza o chuvoso.

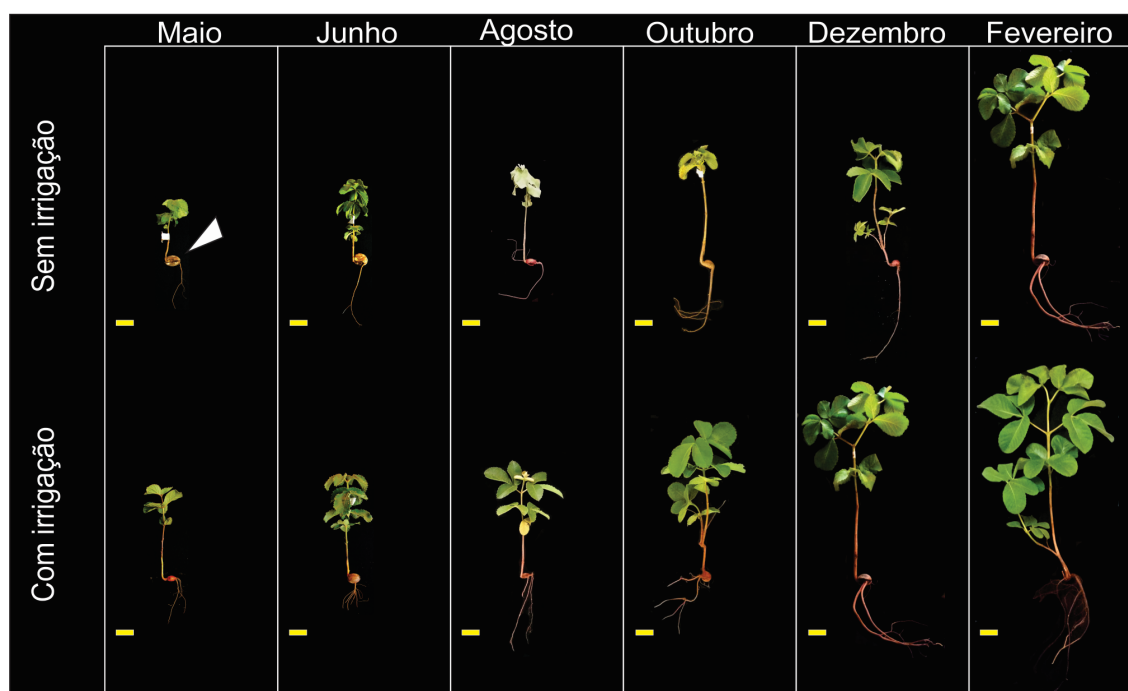


Figura 9. Plântulas de *C. Brasiliense* oriundas de pirênios armazenados por 30 dias, tratados com GA₃, irrigados e não irrigados, coletadas em épocas diferentes pós-plantio. Ponta da seta branca: destacando o hipocótilo, Ponta da seta: destacando folhas murchas e senescência de folhas em outubro.

6.8. Anatomia do hipocótilo

O hipocótilo de *C. Brasiliense* é envolvido pelo tegumento da semente, o qual é formado por células mortas que acumulam compostos fenólicos (Figura 10a). A epiderme uniseriada é composta por células pequenas, em relação às demais, e de formato irregular. O hipocótilo apresenta organização eustélica, com córtex extenso e preenchido por células parenquimáticas de formatos variados, as quais, no mês de junho, nas plantas que não receberam irrigação, acumulavam numerosos grãos de amido. O cilindro vascular, formado por 30 a 40 feixes vasculares colaterais, apresentava, em junho atividade cambial interfascicular, além da formação de extensas faixas cambiais interfasciculares (Figura 10b). A região medular do hipocótilo é preenchida por células parenquimáticas com características semelhantes às corticais. Em agosto, as células do parênquima cortical apresentavam-se mais expandidas, em relação ao mês anterior e os grãos de amido, ainda numerosos, tinham dimensões menores (Figura 10c). No cilindro vascular, várias regiões cambiais fasciculares e interfasciculares haviam se diferenciado em tecidos vasculares secundários (Figura 10d). No mês de outubro, não se observou variações significativas em relação ao mês anterior (Figura 10e-f). Em dezembro, era evidente a formação de uma estrutura periférica semelhante a periderme, por atividade de um meristema que produzia células que acumulavam compostos fenólicos e que ampliavam o revestimento do hipocótilo e, internamente, produzia células parenquimáticas (Figura 10g). A maior parte dos grãos de amido haviam sido consumidos. No cilindro vascular, o crescimento dos tecidos vasculares secundários comprimiu as células parenquimáticas adjacentes, as quais apresentavam-se com contornos irregulares (Figura 10h). Em fevereiro, continuava a atividade do meristema periférico, o qual promovia o aumento, tanto do revestimento fenólico, quanto da região parenquimática externa (Figura 10i). No cilindro vascular, os tecidos secundários mostravam expressivo desenvolvimento, com extensas áreas interfasciculares em diferenciação, porém sem a formação de um

cilindro contínuo (Figura 10j).

Diversas diferenças na anatomia do hipocótilo foram observadas nas plantas irrigadas e evidenciaram o impacto significativo que a irrigação proporcionou em seu desenvolvimento. A atividade do meristema periférico foi constatada, em algumas regiões, desde junho (Figura 10k). Nesta ocasião, os tecidos vasculares apresentavam-se mais diferenciados e os feixes vasculares, em geral, tinham maiores dimensões (Figura 10l). Em agosto, era evidente o acúmulo de amido no parênquima cortical (Figura 10m) e a atividade cambial interfascicular era maior (Figura 10n). Em outubro, havia um expressivo acúmulo de grãos de amido e estes tinham dimensões maiores que aqueles constatados nas ocasiões anteriores (Figura 10o); as faixas cambiais interfasciculares conectavam os feixes isolados, dando início à formação de um cilindro contínuo (Figura 10p). Em dezembro, era notável o aumento na histogênese: a atividade do meristema periférico havia ampliado em muito o revestimento fenólico e, internamente, gerado numerosas fileiras de células parenquimáticas, semelhantes à feloderme (Figura 10q). Além disto, a deposição de amido havia se intensificado. O cilindro vascular contínuo, possuía grande quantidade de xilema (predominante) e floema diferenciados e uma faixa cambial ativa (Figura 10r). Em fevereiro, na periferia do hipocótilo, parte do revestimento fenólico havia descamado, as células parenquimáticas semelhantes à feloderme haviam se expandido e os grãos de amido se apresentavam com dimensões menores, em relação à avaliação anterior, denotando que haviam sido parcialmente consumidos (Figura 10s). No cilindro vascular, mais tecidos secundários haviam se diferenciado e a faixa cambial mostrava-se mais restrita (Figura 10t).

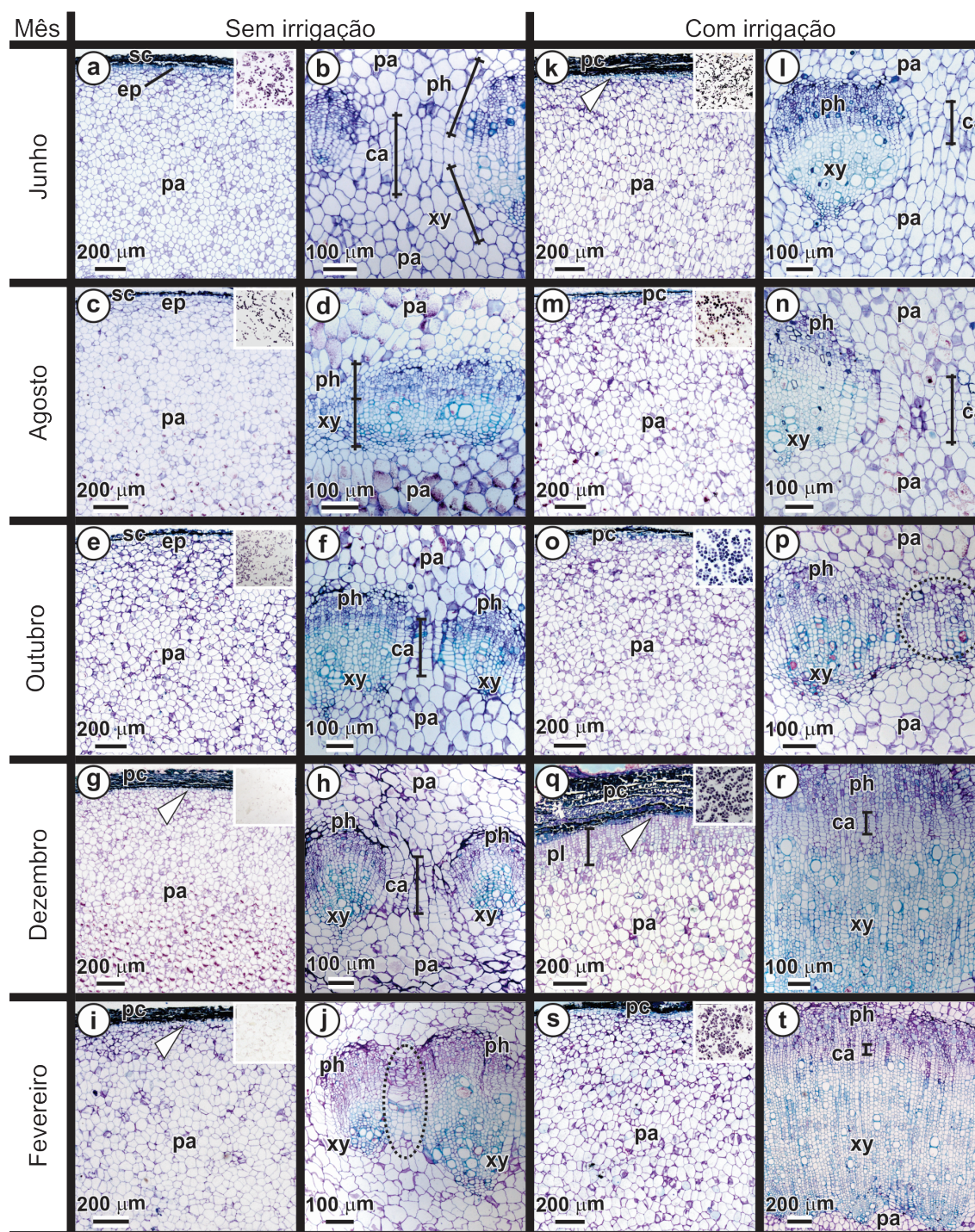


Figura 10. Anatomia de plântulas de *C. brasiliense*, em diferentes épocas de avaliação, irrigadas e não irrigadas. Pontas de seta: células parenquimáticas; ep: epiderme; pa: parênquima; sc: revestimento; pc: procâmbio; ph: floema; xy: xilema; pb: corpos protéicos; ca: atividade cambial; pl: pluma.

7 Discussão

7.1 Influência da disponibilidade hídrica na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pequizeiro nas condições climáticas do Cerrado

A variação na disponibilidade hídrica controla o estabelecimento de plântulas de *C. brasiliense* no ambiente marcadamente sazonal do Cerrado. A germinabilidade aumenta com uso da irrigação e, também,

ao longo do tempo, mesmo na estação seca (possivelmente pela capacidade do pirênio reter água). Além disso, a irrigação favorece a emergência e o desenvolvimento de plântulas normais (Figura 3, 4a-b). A água é um fator chave para a ativação metabólica associada à germinação, além de viabilizar o transporte de nutrientes e favorecer o enfraquecimento dos tecidos que restringem o crescimento do embrião (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006). Após a germinação, as plântulas da maioria das espécies continuam altamente dependentes da água para a manutenção do metabolismo, incluindo a mobilização de reservas, o que influencia, de forma decisiva, a sua sobrevivência e o seu desenvolvimento (Bewley *et al.*, 2013). Neste contexto, o déficit hídrico constitui um importante filtro ecológico no Cerrado (Oliveira *et al.*, 2005; Pellizzaro *et al.*, 2017; Chaid *et al.*, 2023). As condições edáficas influenciam a disponibilidade hídrica: solos arenosos, predominantes no Cerrado, possuem menor capacidade de retenção de água e acentuam os efeitos da estação seca sobre a germinação e sobrevivência de plântulas, como já sugerido para espécies desse bioma (Ribeiro *et al.*, 2021). Nossos resultados indicam que, além da disponibilidade hídrica, as temperaturas amenas, abaixo de 25°C, também limitam o estabelecimento das plântulas de *C. brasiliense*. Mesmo com uso de irrigação, não ocorre emergência nos meses mais frios do ano (entre abril e setembro, Figura 1, 2), o que também foi constatado para outra espécie do Cerrado, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) (Souza *et al.*, 2019). A sensibilidade das plântulas de *C. brasiliense* a temperaturas amenas tem sido evidenciada em alguns estudos (Sousa *et al.*, 2017b; Pajehú, 2018; Gonçalves, 2019). Em conjunto, estas informações são importantes para o manejo da propagação da espécie: considerando que as sementes apresentam dormência (a qual pode ser parcialmente superada pela pós-maturação, Sousa *et al.*, 2017a, b) e as plântulas não se desenvolvem em temperaturas amenas, o armazenamento das sementes por alguns meses e a semeadura no final da estação seca/fria constitui estratégia para o manejo da propagação, favorecendo o estabelecimento das plântulas.

A irrigação proporciona plântulas mais vigorosas, porém, independentemente do uso da água, o maior incremento no crescimento ocorre na estação úmida, principalmente entre os meses dezembro e fevereiro. A superioridade do desenvolvimento da parte aérea das plântulas irrigadas pode ser observada no início da estação seca (maio), no entanto, o efeito da irrigação sobre o desenvolvimento do sistema radicular é evidenciado apenas no meio da estação chuvosa (dezembro). O crescimento dos órgãos aéreos e das raízes foi muito reduzido durante a estação seca e fria, como constatado para algumas espécies do Cerrado sob stress hídrico e/ou baixa temperatura (Matos *et al.*, 2018; Chaib *et al.*, 2023). Estudos com plantas jovens de *C. brasiliense* e outras do Cerrado mostraram que, apesar da tolerância à seca, a atividade estomática e a taxa transpiratória e fotossintética são fortemente favorecidas pela disponibilidade hídrica, temperaturas elevadas e alta radiação (García-Núñez *et al.*, 2019; Miranda *et al.*, 2019; Scalon *et al.*, 2020), o que constitui um padrão comum para diversas plantas estudadas (Sales *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2018). Dessa forma, a irrigação complementar é uma prática importante para o estabelecimento de plântulas de *C. brasiliense* a campo e sua utilização deve ser considerada em projetos de cultivos e recuperação de áreas degradadas. Entretanto, o uso da irrigação deve ser feito, principalmente, no primeiro ano após o plantio, pois sobreviver a primeira estação seca e ter crescimento inicial vigoroso são bons preditores para o estabelecimento das plântulas no Cerrado (Silva *et al.*, 2015; Pellizzaro *et al.*, 2017).

7.2 O papel do hipocótilo, do ciclo foliar e do balanço entre as partes aérea/subterrânea no desenvolvimento e relação da planta com o ambiente

O hipocótilo em plantas de pequiheiro desempenha o papel de estrutura de reserva, armazenando e translocando substâncias, respectivamente, na estação chuvosa e seca. A irrigação, principalmente na estação seca (de junho até outubro), proporciona hipocótilos maiores do que o observado nas plântulas em condição de sequeiro (Figura 8a-b). Na condição inicial, os hipocótilos das plantas não irrigadas apresentam atividade cambial interfascicular, o que favorece o seu crescimento, pela produção de xilema e floema secundários. No entanto, a atividade cambial diminui com a redução da disponibilidade hídrica. Já nas plântulas irrigadas, a atividade cambial é mais intensa e ininterrupta ao longo das estações. Na maioria das espécies estudadas, a atividade cambial tem se mostrado altamente relacionada à disponibilidade de água, sendo também influenciada pela temperatura e fotoperíodo (Borchert, 1999; Begum *et al.*, 2010; Prislán *et al.*, 2011). Como a quantidade e funcionalidade dos tecidos vasculares é determinante para a translocação de substâncias entre a parte aérea e raiz, nossos resultados indicam que a restrição do crescimento secundário no hipocótilo é um fator crucial para a redução do desenvolvimento das plantas de *C. brasiliense* na estação seca.

O amido é um dos principais carboidratos de reserva, sendo que, aquele presente no hipocótilo é, normalmente, associado à fornecimento de energia ao desenvolvimento inicial das plântulas (Gogosz *et al.*, 2010; Bewley *et al.*, 2013; Aguirre *et al.*, 2018). Nossos resultados mostraram que enquanto os hipocótilos de plântulas de *C. brasiliense* irrigadas acumulam amido, ocorre mobilização da substância na ausência de irrigação (Figura 10a, c, g, q), indicando que a taxa de degradação é superior a taxa de produção. O déficit hídrico é um importante indutor da mobilização de amido (Dong e Beckles 2019), a qual ocorre pelas vias hidrolítica e fosforolítica (Weise *et al.*, 2006), pela atividade das enzimas α -amilase (Thalman *et al.*, 2016), β -amilase (Ma *et al.*, 2018) e α -glucanofosforilase (Zeeman *et al.*, 2004). Embora acúmulo de amido no hipocótilo de *C. brasiliense* fosse conhecido (Sousa *et al.*, 2017a), até então, o papel da estrutura no estabelecimento das plântulas a campo não era definido. O presente trabalho apresenta evidências que o hipocótilo é importante na dinâmica de reservas relacionadas à sazonalidade, conforme já relatado para espécies de outras famílias (Lotfi *et al.*, 2019).

A deciduidade também constitui estratégia importante na tolerância ao déficit hídrico em plântulas de *C. brasiliense*. As plântulas não irrigadas diminuíram drasticamente o número de folhas, principalmente, entre agosto e outubro, época mais seca do ano (Figura 9). Trabalhos realizados com plântulas e plantas adultas de espécies do Cerrado, inclusive *C. brasiliense*, evidenciaram a dinâmica de queda e rebrota de folhas associada à sazonalidade (Oliveira e Silva, 1993; Franco *et al.*, 2005; Vilela *et al.*, 2008; Salazar e Goldstein, 2014; García-Núñez *et al.*, 2019). A queda de folhas reduz o efeito do déficit hídrico pela diminuição da transpiração, porém com comprometimento quase total do processo de fotossíntese e, conseqüente, estagnação do crescimento da planta (Nguyen *et al.*, 2018). Embora a deciduidade não seja uma característica marcante do Cerrado, em relação à outros biomas sazonais, nossos resultados mostram que a estratégia pode ser importante na fase de estabelecimento das plântulas, quando a vulnerabilidade ao déficit hídrico é maior (Oliveira e Silva, 1993; Pellizzaro *et al.*, 2017; Borghetti *et al.*, 2019).

O sistema radicular de plântulas de *C. brasiliense* é composto por raiz pivotante que cresce, mesmo de forma reduzida, durante a estação seca, mais que a parte aérea, principalmente na condição de sequeiro. As relações entre parte aérea e raiz, para o tamanho e matéria seca, apresentam redução acentuada na época seca. O maior crescimento em plântulas do sistema radicular em relação a parte aérea favorece, ao mesmo tempo, a retirada de água em camadas mais profundas do solo e menor perda de água para atmosfera. Esse desenvolvimento mais rápido das raízes nos estágios iniciais da planta já foi descrito para outras espécies do Cerrado (Hoffmann, 2000; De Almeida *et al.*, 2017; Viera *et al.*, 2019; Chaid *et al.*, 2023), constituindo-se numa importante estratégia para a tolerância à períodos prolongados de seca (Coomes e Grubb, 2003; Silveira *et al.*, 2013; Passaretti *et al.*, 2019).

Plantas típicas do Cerrado desenvolveram diversas adaptações morfológicas e fenológicas (Vieira *et al.*, 2019) para sobreviverem ao clima sazonal do bioma, especialmente, durante a fase de semente até o estabelecimento de plântulas (Borghueti *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2021). A água, a temperatura e o fogo são os principais fatores que interferem diretamente na germinação, sobrevivência, distribuição e produtividade da espécie presentes nesse bioma (Chaib *et al.*, 2023, Ribeiro *et al.*, 2021, Borghetti *et al.*, 2019, Choat *et al.*, 2018). O pequiizeiro demonstra, na fase inicial de desenvolvimento, os seguintes mecanismos de tolerância a seca: presença de estrutura de reserva (hipocótilo), redução da área foliar, crescimento lento no período de estiagem, maior sistema radicular em relação a parte aérea e retomada rápida do crescimento e desenvolvimento em condições climáticas satisfatórias. O conhecimento dessas estratégias é importante para definir técnicas de manejo para projetos de recuperação de áreas degradadas e para produção de mudas em larga escala.

8 Conclusões

O uso da irrigação favorece a germinação, emergência e sobrevivência de plântulas de *C. brasiliense* nas condições sazonais do Cerrado. Entretanto, o maior incremento no crescimento das plântulas ocorre na estação úmida, a partir de outubro até fevereiro, independentemente do uso da irrigação. Plantas jovens de pequiizeiro apresentam diversas estratégias para sobreviver ao período de estiagem, como a presença de hipocótilo de reserva, mecanismo de queda de folhas e sistema radicular profundo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. P.; GARCIA, Q. S. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de *Xyris* L. (Xyridaceae) ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 149-154, 2005.
- AGUIRRE, M.; KIEGLE, E.; LEO, G.; EZQUER, I. Carbohydrate reserves and seed development: An overview. **Plant reproduction**, v. 31, n. 3, p. 263-290, 2018.
- AKBAR, S.; HANIF, U.; ALI, J.; ISHTIAQ, S. Pharmacognostic studies of stem, roots and leaves of *Malva parviflora* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 5, p. 410-415, 2014.
- BARRADAS, M. M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui) em várias fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, [S.l.], v. 9, p. 69-84, 1973.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination**. San Diego: Academic Press, 2014.
- BATISTA, F. O.; DE SOUSA, R. S. Compostos bioativos em frutos pequi (*caryocar brasiliense* camb.) E baru (*dipteryx alata vogel*) e seus usos potenciais: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 9259-9270, 2019.
- BEGUM, S.; NAKABA, S.; ORIBE, Y.; KUBO, T.; FUNADA, R. Cambial sensitivity to rising temperatures by natural condition and artificial heating from late winter to early spring in the evergreen conifer *Cryptomeria japonica*. **Trees**, v. 24, 2010, p. 43--52.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORSTH, W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. New York: Springer, 2013.
- BORCHERT, R. Climatic periodicity, phenology and cambial activity in tropical dry forest trees. **IAWA J**, v. 20, n. 3, p. 239—247, 1999.
- BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. D. L. C.; RODRIGUES, R. R. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 15-21, 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CAMPOS-FILHO, E. M.; DA COSTA, J. N. M. N.; DE SOUSA, O. L.; JUNQUEIRA, R. G. P. Mechanized direct-seeding of native forests in Xingu, Central Brazil. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 32, p. 702–727, 2014.
- CHOAT, B.; BRODRIBB, T. J.; BRODERSEN, C. R.; DUURSMA, R. A.; LOPEZ, R.; MEDLYN, B. E. Triggers of tree mortality under drought. **Nature**, v. 558, n. 7711, p. 531-539, 2018.

COOMES, D.; GRUB, B. Colonization, tolerance, competition and seed-size variation within functional groups. **TRENDS in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 6, p. 283-291, 2003.

DA GLÓRIA B. A.; GUERREIRO, C. **Anatomia vegetal**. Universidade de São Paulo. ESALQ, 1992.

DA SILVA BRITO, L. P.; BEZERRA, T. T.; NUNES, E. M. B.; CAVALCANTE, MZB, SIQUEIRA FILHO, J. A. Tempo de armazenamento e temperatura no comportamento germinativo de *Schinopsis brasiliensis* ENGLER. **Nativa**, v. 8, n. 4, p. 552-557, 2020.

DA SILVA, M. A. P.; MEDEIROS FILHO, S. Morfologia de fruto, semente e plântula de piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm.). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 3, p. 320-325, 2006.

De Almeida LV, Ferri PH, Seraphin JC, de Moraes MG (2017). Seasonal changes of fructans in dimorphic roots of *Ichthyothere terminalis* (Spreng.) Blake (Asteraceae) growing in Cerrado. *Science of The Total Environment*, v. 598, p. 404-412, 2017, 2017.

DE CASTRO, E. A.; KAUFFMAN, J. B. Ecosystem structure in the Brazilian Cerrado: a vegetation gradient of aboveground biomass, root mass and consumption by fire. **J Trop Ecol**, v. 14, p. 263–283, 1998.

DE CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G. e BORGHETTI, F. (eds.). **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 51-68, 2004.

DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; ALVES, J. M. C.; SANTOS, B. R.; NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, P. D. D. O.; BARBOSA, S. Métodos para a superação da dormência fisiológica de *Caryocar brasiliense* Camb. **Cerne**, [Lavras], v. 16, n. 2, p. 131-135, 2010.

Dong S, Beckles DM .Dynamic changes in the starch-sugar interconversion within plant source and sink tissues promote a better abiotic stress response. *Journal of plant physiology*, v. 234, p. 80-93, 2019.

Ferrari E, da Paz A, da Silva AC. Déficit hídrico e altas temperaturas no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas. *Nativa*, 3 (1), 67-77, 2015.

FRANCO, A. C.; BUSTAMANTE, M.; CALDAS, L. S.; GOLDSTEIN, G.; MEINZER, F. C.; KOZOVITS, A. R.; RUNDEL, P.; CORADIN, V. R. T. Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. **Trees**, 19, p. 326-335, 2005.

GOGOSZ, A. M.; COSMO, N. L.; BONA, C.; SOUZA, L. A. D. Morphology and anatomy of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. seedlings (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 613-623, 2010.

GONÇALVES, P. G. **Tratamentos pré-germinativos de pirênios na emergência e sobrevivência de mudas de pequi no Cerrado**. 2019. 46 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2019.

GOTT, B.; BARTON, H.; SAMUEL, D.; TORRENCE, R. Biology of starch. In: **Ancient starch research**. Routledge, 2016. p. 35-46.

GUEDES, A. M. M.; ANTONIASSI, R.; FARIA-MACHADO, A. F. Pequi: a Brazilian fruit with potential uses for the fat industry. **Oil seeds & Fats Crops and Lipids**, v. 24, p. 01-04, 2017.

HOFFMANN, W. A. Post-Establishment Seedling Success in the Brazilian Cerrado: A Comparison of Savanna and Forest Species. **Biotropica**, v. 32, n. 1, p. 62-69, 2000.

HONG, T. D.; LININGTON, S.; ELLIS, R. H. **Seed storage behavior: a compendium**. 1996. INMET, Instituto Nacional de Meteorologia, 2021. Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>. Acesso em: 21 Abr. 2021.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electronmicroscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, 137A- 138 p, 1965.

LISAR, S. Y. S. *et al.*. **Water stress in plants: causes, effects and responses, in water stress**. Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman Ed. New York: InTech, 2012.

LOTFI, N.; SOLEIMANI, A.; VAHDATI, K.; ÇAKMAKÇI, R. Comprehensive biochemical insights into the seed germination of walnut under drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 250, p. 329-343, 2019.

LOUCKS, D. P.; VAN BEEK, E. Water quality modeling and prediction. **Water Resource Systems Planning and Management**, Springer, Cham, p. 417-467, 2017.

MA, Y. Z.; MIN, L.; WANG, M. J.; WANG, C. Z.; ZHAO, Y. L.; LI, Y. Y.; FANG, Q. D.; WU, Y. L.; XIE, S.; DING, Y. H.; SU, X. J.; HU, Q.; ZHANG, Q. H.; LI, X. Y.; ZHANG, X. L. Disrupted genome methylation in response to high temperature has distinct effects on microspore abortion and anther indehiscence. **Plant Cell**, v. 30, n. 7, p. 1387–1403, 2018.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005.

MENDES, D. S. T.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANTIAGO, T. A.; PAJEHÚ, L. F.; GONÇALVES, A. P. Qualidade fisiológica e superação de dormência em sementes de pequi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2018.

MIRANDA, R. F.; ALVES JÚNIOR, J.; CASAROLI, D.; EVANGELISTA, A. W.; BATISTI, R. Leaf temperature and transpiration of pequi trees with and without water restriction. **Engenharia Agrícola**, v. 39, n. 5, p. 579-585, 2019.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R.; MENDES, N. S. R.; SILVA, F. A. Nutritional composition and total phenolic compounds content of pequi pulp (CaryocarbrasilienseCambess.). **Journal of bioenergy and food science**, v. 7, n. 2, p. 2812019, 2020.

NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L.; SOUZA, E. R. B. **Pequi - Série Frutas Nativas**.

Jaboticabal: Editora FUNEP, 2010.

NGUYEN, H. C.; LIN, K. H.; HSIUNG, T. C.; HUANG, M. Y.; YANG, C. M.; WENG, J. H.; CHANG, K. C. Biochemical and physiological characteristics of photosynthesis in plants of two *Calathea* species. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 3, p. 704, 2018.

OLIVEIRA, M. N. S.; LOPES, P. S. N.; MERCADANTE, M. O.; OLIVEIRA, G. L.; GUSMÃO, E. Medição da área foliar do pequizeiro utilizando a soma da nervura principal dos folíolos. **Unimontes Científica**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 1-7, 2002.

PAIVA, É. A. S.; DE PINHO, S. Z.; OLIVEIRA, D. M. T. **Large plant samples: how to process for GMA embedding?. In: Light Microscopy**. Totowa, NJ: Humana Press, 2011. p. 37-49.

PAJEHU, L. F. **Propagação e estabelecimento de plantas de pequizeiro**. 2018. 51 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.

PELLIZZARO, K. F.; CORDEIRO, A. O.; ALVES, M.; MOTTA, C. P.; REZENDE, G. M.; SILVA, R. R.; SCHMIDT, I. B. “Cerrado” restoration by direct seeding: field establishment and initial growth of 75 trees, shrubs and grass species. **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 3, p. 681-693, 2017.

PRISLAN, P.; SCHIMTT, U.; KOCH, G.; GRICAR, J.; CUFAR, K. Seasonal ultrastructural changes in the cambial zone of beech (*Fagus sylvatica*) grown at two different altitudes. **IAWA J.**, v. 32, n. 4, p. 443—459, 2011.

RODRIGUES, I. V.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; MERCADANTE SIMÕES, M. O.; MARTINS, C. P. S.; VIEIRA, F. R.; CACIQUE, A. P.; SANGLARD, D. A.; SILVÉRIO, F. O. Fruit development and ABA biosynthesis during *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) Seed Maturation. **Journal of Plant Growth Regulation**, [Estados Unidos], 2019.

SALES, C. R.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, R. S.; FONTENELE, A. V.; MACHADO, E. C.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, R. V. Photosynthetic and antioxidant responses to drought during sugarcane ripening. **Photosynthetica**, v. 53, n. 4, p. 547-554, 2015.

SILVA, E. M. S. D. (2013). **Anatomia e análise do óleo essencial dos órgãos vegetativos de *Aldama tenuifolia* (Gardner) EE Schill. & Panero e *A. kunthiana* (Gardner) EE Schill. & Panero (Asteraceae-Heliantheae)** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

SILVA, R. R.; OLIVEIRA, D. R.; DA ROCHA, G. P.; VIEIRA, D. L. Direct seeding of Brazilian savanna trees: effects of plant cover and fertilization on seedling establishment and growth. **Restoration Ecology**, v. 23, n. 4, p. 393-401, 2015.

SILVEIRA, C. E. S.; PALHARES, D.; PEREIRA, L. A. R.; PEREIRA, K. B. D.; SILVA, F. A. B. Strategies of plant establishment of two Cerrado species: *Byrsonimabasiloba* Juss. (Malpighiaceae) and *Eugenia dysenterica* Mart. ex DC (Myrtaceae). **Plant Species Biology**, v. 28, p. 130-137, 2013.

SOUSA, A. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; ANDRADE, M. S.; MERCADANTE-SIMOES, M. O. Structural aspects of germination control in pyrenes of *Caryocarbrasiliense*(Caryocaraceae). **Trees**, [s. l.], v. 31, p. 887–902, 2017a.

SOUSA, A. M. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANTIAGO, T. A.; LACERDA, V. R.; MARTINS, C. P. S. Germination and storage of *Caryocarbrasiliense* seeds. **Seed Sci. & Technol.**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 1-13, 2017b.

SOUZA, A. D.; MORAES, M. G. D.; RIBEIRO, R. D. C. L. F. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botânica Brasilica**, v. 19, p. 81-90, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 3 ed, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

THALMANN, M.; PAZMINO, D.; SEUNG, D.; HERRER, D.; NIGRO, A.; MEIER, T.; KOLLING, K.; PFEIFHOFER, H. W.; ZEEMAN, S. C.; SANTELIA, D. Regulation of leaf starch degradation by abscisic acid is important for osmotic stress tolerance in plants. **The Plant Cell**, v. 28, n. 8, p. 1860-1878, 2016.

TOOSI, A. F.; BAKAR, B. B.; AZIZI, M. Effect of drought stress by using PEG 6000 on germination and early seedling growth of *Brassica juncea* Var. Ensabi. **Sci P Ser A Agron**, p. 360-363, 2014.

VIEIRA, E. A.; GALVÃO, F. C. A.; BARROS, A. L. Influence of water limitation on the competitive interaction between two Cerrado species and the invasive grass *Brachiariabrizantha* cv. Piatã. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 135, p. 206-214, 2019.

WEISE, S. E.; SCHRADER, S. M.; KLEINBECK, K. R.; SHARKEY, T. D. Carbon balance and circadian regulation of hydrolytic and phosphorolytic breakdown of transitory starch. **Plant Physiology**, v. 141, n. 3, p. 879-886, 2006.

ZEEMAN, S. C.; THORNEYCROFT, D.; SCHUPP, N.; CHAPPLE, A.; WECK, M.; DUNSTAN, H.; HALDIMANN, P.; BECHTOLD, N.; SMITH, A. M.; SMITH, S. M. Plastidial alpha-glucan phosphorylase is not required for starch degradation in *arabidopsis* leaves but has a role in the tolerance of abiotic stress. **Plant Physiology**, v. 135, n. 2, p. 849-858, 2004.