



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE VEGETAL

MORFOFISIOLOGIA DE TOMATEIROS MUTANTES FOTOMORFOGENÉTICOS

***FRI, TRI, PHYB2* CULTIVADOS EM CONDIÇÕES DE SOL E SOMBRA**

2017

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação


Nome completo do autor: Emiliana Lício Mereb

Título do trabalho: Morfofisiologia de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos *fri*, *tri*, *phyB2*, cultivados em condições de sol e sombra.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: 26/04 / 2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

EMILIANA LÍCIO MEREB

**MORFOFISIOLOGIA DE TOMATEIROS MUTANTES FOTOMORFOGENÉTICOS
FRI, TRI, PHYB2 CULTIVADOS EM CONDIÇÕES DE SOL E SOMBRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás
como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Vegetal para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hyrandir Cabral de Melo

GOIÂNIA

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Mereb, Emiliana

Morfofisiologia de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra [manuscrito] / Emiliana Mereb. - 2017.

5, 73 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Hyrandir Cabral Melo; co-orientador Dr. Maria Helena Rezende.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, gráfico, lista de figuras.

1. fotomorfogênese. 2. fitocromo. 3. *Solanum lycopersicum*. I. Cabral Melo, Hyrandir, orient. II. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE VEGETAL

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DE Nº 054

ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO. – Aos trinta e um dias do mês de março do ano de dois mil e dezessete (31/03/2017), às 14h00min horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Prof. Dr. Hyrandir Cabral de Melo – orientador; Prof. Dr. Renê Gonçalves da Silva Carneiro e Prof. Dr. Rogério Falheiros Carvalho para, sob a presidência do primeiro examinador, e em sessão pública realizada no Mini-auditório do CERCOMP /UFG, procederem à avaliação da defesa de Dissertação intitulada **“MORFOFISIOLOGIA DE TOMATEIROS MUTANTES FOTOMORFOGENÉTICOS FRI, TRI, PHYB2, CULTIVADOS EM CONDIÇÕES DE SOL E SOMBRA.”** em nível de mestrado, área de concentração em Botânica, de autoria de **EMILIANA LÍCIO MEREB** discente do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Prof. Dr. Hyrandir Cabral de Melo que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra a seguir foi concedida à autora da dissertação que, em 40 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº 1283/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal, a Dissertação foi aprovada por unanimidade, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE VEGETAL, na área de concentração em Botânica pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGBV da versão definitiva da dissertação, com as devidas correções, em trinta dias

35 a contar da data da defesa. Cumpridas as formalidades de pauta, às 17 horas e 20 min,
36 a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado e para constar
37 eu, Glezilene Braz Pereira dos Santos, assistente administrativa do PPGBV lavrei a presente Ata,
38 que após lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em três vias de
39 igual teor.

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60


61

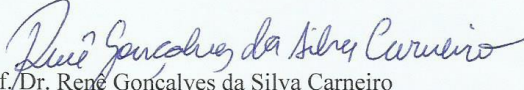
62


63

64

65


Prof. Dr. Hyrandir Cabral de Melo
Presidente da Banca
ICB/UFG


Prof./Dr. René Gonçalves da Silva Carneiro
ICB/UFG


Prof. Dr. Rogério Falheiros Carvalho
UNESP/SP

AGRADECIMENTOS

À Deus e mentores espirituais, que guiam os meus passos e me conduzem para o caminho do bem e da busca pela paz interior.

À minha família, especialmente à minha mãe, pelo apoio, dedicação e amor incondicional prestados a mim e a todos do seu convívio.

Ao meu orientador Hyrandir Cabral de Melo, pela paciência, dedicação e pelos ensinamentos que foram além da fisiologia vegetal.

Aos meus amigos, especialmente à Fernanda Mesquita e sua família, que sempre estiveram dispostos a me ajudar e me acolher nos momentos em que eu precisei.

A todos do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Goiás, pelas contribuições durante o experimento, e à Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À todas as pessoas com as quais mantive e mantenho contato, pelas contribuições no meu amadurecimento e na busca do autoconhecimento.

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 REFERENCIAL TEÓRICO	4
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 Cultivo dos tomateiros	17
4.2 Parâmetros morfométricos	18
4.3 Análises fisiológicas	18
4.4 Análises anatômicas.....	19
5 RESULTADOS	22
5.1 Parâmetros morfométricos	22
5.2 Análises fisiológicas	29
5.3 Análises anatômicas	35
5.4 Aspectos não quantitativos	41
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	51
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
10 MATERIAL SUPLEMENTAR	63

RESUMO

Morfofisiologia de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra – Fitocromos são pigmentos proteicos relacionados com a assimilação qualitativa e quantitativa da luz pelas plantas, traduzindo-a em sinais bioquímicos capazes de influenciar o crescimento e desenvolvimento vegetal. Em tomateiros, o mutante *fri*, apresenta deficiência no fitocromo A, o mutante *tri*, deficiência de fitocromo B1 e o mutante *phyB2* é deficiente no fitocromo B2. Neste trabalho foram analisados os efeitos dessas mutações quando do cultivo das plantas nos tratamentos sol e sombra, analisando aspectos morfométricos e partição de fotoassimilados, aspectos da anatomia foliar e caulinar, taxas de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), fluorescência da clorofila e conteúdo de clorofila e carotenoides de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos *fri*, *tri*, *phyB2* e o genótipo selvagem *MoneyMaker*. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e caracterizadas ao longo do seu desenvolvimento. O mutante *fri* e *tri* obtiveram menor área foliar total que os demais genótipos em ambos os tratamentos. Todos os genótipos apresentaram-se maiores no tratamento sombra, e nestas condições o mutante *tri* apresentou maior altura que os demais genótipos. A taxa fotossintética foi maior na condição de sol, e o mutante *phyB2* submetido ao sombreamento exibiu maior A que os demais genótipos. Em condições de sol foram observadas menores quantidades de clorofila a e carotenoides no mutante *tri* em relação aos demais genótipos. Os mutantes *fri* e *tri* exibiram menor rendimento quântico potencial (F_v/F_m) e efetivo (F_q'/F_m') do fotossistema II em condições de sombra. Menores valores de F_q'/F_m' foram observados no mutante *tri* sob sombreamento quando comparados aos demais genótipos. Em ambos os tratamentos os mutantes apresentaram maiores valores de biomassa seca das raízes/massa seca total em relação ao genótipo controle, e aos 130 DAE o mutante *fri* exibiu redução desse parâmetro. Alocação de fotoassimilados aos 130 DAE em folhas foi maior nos mutantes *fri*, *tri*, e *phyB2* comparativamente ao genótipo selvagem, que deteve maior razão massa seca dos frutos/massa seca total em comparação aos mutantes. A área do elemento de vaso foi menor para o mutante *fri* em comparação aos demais genótipos. A densidade estomática da face abaxial foi maior para os mutantes *fri* e *phyB2* na condição de sol. A altura das células epidérmicas da face adaxial, os parênquimas paliçádico e esponjoso e a espessura do xilema foram maiores na condição de sol em relação à sombra. Conclui-se que as características analisadas são influenciadas por fitocromos específicos na espécie estudada e que a ação dos fitocromos difere nas condições de sol e sombra.

Palavras-chave: fotomorfogênese, fitocromo, *Solanum lycopersicum*

ABSTRACT

Morphophysiology of mutants tomato photomorphogenic *fri*, *tri*, *phyB2* grown in sun and shade conditions- Phytochromes are protein pigments related to the qualitative and quantitative absorption of light by plants, translating it into biochemical signals that influence plant growth and development. In tomato, *fri* mutant shows deficiency in the phytochrome A, the mutant *tri*, deficiency phytochrome B1 and *phyB2* mutant is deficient in phytochrome B2. In this paper we analyzed the effects of these changes when the cultivation of plants in the sun and shade treatments by analysis the growth and assimilates partition, photosynthetic rates (A), stomatal conductance (g_s), transpiration (E), chlorophyll fluorescence and chlorophyll and carotenoid content in tomato mutants photomorphogenic *fri*, *tri*, *phyB2* and wild genotype *Moneymaker*. The plants were grown in a greenhouse and featured throughout its development. The *fri* and *tri* mutant exhibited lower total leaf area than the other genotypes in both treatments. All genotypes were taller in shade treatment, and in these conditions the mutant *tri* presented greater height than the other genotypes. The photosynthetic rate was higher in sun condition, and *phyB2* mutant subjected to shading exhibited higher A than the other genotypes. Under sunny conditions were observed lower amounts of chlorophyll a and carotenoid in the *tri* mutant compared to other genotypes. *Fri* and *tri* mutants showed lower potential quantum yield (F_v / F_m) and effective (F_q' / F_m') of photosystem II in shade conditions. Lower values of F_q' / F_m' were observed in *tri* mutant under shady when compared to other genotypes. In both treatments mutants showed higher dry biomass values of roots / total dry weight in relation to control genotype, and 130 DAE *fri* mutant exhibited reduction of this parameter. Assimilates allocation to 130 DAE in leaves was higher in *fri* mutants, *tri*, and *phyB2* compared to the wild genotype, which showed the highest dry mass ratio of fruit / total dry mass compared to the mutants.. The area of the vessel element was for the *fri* mutant in comparison to the other genotypes. The stomatal density of the abaxial face was higher for the *fri* and *phyB2* mutants in sun condition. The thickness of the adaxial epidermal cells, the palisade and spongy parenchyma, and the xylem thickness were greater in the sun condition in relation to the shade, greater in the sun condition in relation to the shade. It is concluded that the analyzed characteristics are influenced by specific phytochrome in the studied species and the action of phytochrome differs in sun and shade conditions.

Keywords: *Photomorphogenesis, phytochrome, Solanum lycopersicum*

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** (A) Picos de absorção do fitocromo na forma inativa (FV) em vermelho (V) (660 nm) e forma ativa (FVE) em vermelho-extremo (VE) (730 nm), (B) fotoconversão do fitocromo Fv a FVE 8
- Figura 2:** Biplot das variáveis altura (Alt.), comprimento (C. folha) e largura da maior folha (L. folha), número de folhas (N. folhas), comprimento (C. entrenó) e espessura do entrenó (Esp. Entrenó) e área foliar aos 28 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2 22
- Figura 3:** Aspectos fenotípicos do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri* e *phyB2*, 28 dias após o tratamento sol e sombra..... 24
- Figura 4:** Biplot das variáveis altura (Alt.), comprimento (C. folha) e largura da maior folha (L. folha), número de folhas (N. folhas), comprimento (C. entrenó) e espessura do entrenó (Esp. Entrenó), área foliar, massa seca da raiz em relação a massa seca total (msr/mst), massa seca do caule pela massa seca total (msc/mst), massa seca das folhas em relação a massa seca total (msf/mst) aos 45 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2 25
- Figura 5:** Aspectos fenotípicos do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri* e *phyB2* 45 dias após o tratamento sombra, evidenciando a maior altura do mutante *tri* em comparação aos demais genótipos..... 27
- Figura 6:** Partição de fotoassimilados entre os genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol e sombra, aos 130 DAE..... 28
- Figura 7:** Análise do tamanho dos frutos entre os genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2*.....28
- Figura 8:** Comparação fenotípica dos tomates das plantas do grupo controle, *fri*, *tri*, *phyB2*, evidenciando o menor tamanho do tomate dos mutantes *fri* em comparação com os demais genótipos..... 29
- Figura 9:** Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), quantidade de clorofila *a* (ChlA), clorofila *b* (ChlB), carotenoides, razão clorofila *a* clorofila *b* (ChlA/ChlB) aos 28 DAE

dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2..... 30

Figura 10: Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), quantidade de clorofila a (ChlA), clorofila b (ChlB), carotenoides, razão clorofila a clorofila b (ChlA/ChlB), fluorescência inicial (F_0) e rendimento quântico potencial (F_v/F_m) aos 37 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2..... 32

Figura 11: Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico potencial (F_v/F_m) e rendimento quântico efetivo (F_q'/F_m') aos 55 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2..... 34

Figura 12: Biplot das variáveis de índice estomático (IE abaxial e IE adaxial), densidade estomática (NE abaxial e NE adaxial), altura do parênquima paliçádico (Par. Paliçádico) e esponjoso (Par. Esponjoso), células epidérmicas (Ep. Abaxial e E. Adaxial), altura do xilema (Alt. Xilema) e área do elemento de vaso (Área El. Vaso) aos 37 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2..... 36

Figura 13: Área do elemento de vaso (μm), altura do xilema (μm); altura das células epidérmicas – face abaxial (μm); altura das células epidérmicas – face adaxial (μm); altura do parênquima paliçádico (μm); altura do parênquima esponjoso (μm); índice estomático – face abaxial; índice estomático – face adaxial; densidade estomática – face abaxial aos 55 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* submetidos ao tratamento sol..... 40

Figura 14: Fotomicrografia destacando a menor área do elemento de vaso caulinar do mutante *fri* (B) em comparação com os demais genótipos, aos 55 DAE..... 41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A.....	fotossíntese líquida(em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
DAE	dias após exposição ao tratamento
E.....	transpiração (em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
F ₀	fluorescência inicial
<i>fri</i>	<i>far red insensitive</i>
F _q '/F _m '	rendimento quântico efetivo do fotossistema II
FSII.....	fotossistema II
F _v /F _m	rendimento quântico potencial do fotossistema II
<i>gs</i>	condutância estomática (em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
<i>tri</i>	<i>temporary red insensitive</i>

1 INTRODUÇÃO

Fitocromos são cromoproteínas envolvidas na percepção quantitativa e qualitativa da radiação luminosa, especialmente nos espectros do vermelho (V) e do vermelho extremo (VE). Eles traduzem a informação da radiação em sinais bioquímicos, desencadeando mudanças fisiológicas capazes de influenciar o crescimento e desenvolvimento vegetal (Carvalho *et al*, 2011).

Plantas mutantes em fitocromo têm sido utilizadas para elucidar a relação entre a radiação solar e o desenvolvimento da planta, sendo ferramentas muito importantes no estudo da fotomorfogênese. Mutações em genes específicos da biossíntese ou da via de transdução de sinal dos fitocromos permitem analisar as diferentes funções fisiológicas desses receptores. Tomateiros e *Arabidopsis thaliana* são as espécies com maior número de mutantes em fotorreceptores e as mais utilizadas em estudos de fotomorfogênese. Tomateiros mutante *fri* (*far red insensitive*) são deficientes em phyA sendo insensíveis ao comprimento de onda do vermelho extremo (Van Tuinen *et al.*, 1995). O mutante *tri* (*temporary red insensitive*) é deficiente no fitocromo B1 (phyB), sendo insensíveis ao comprimento de onda do vermelho (Van Tuinen *et al.*, 1995), e o mutante *phyB2* apresenta deficiência no fitocromo B2 (Kerckhoffs *et al.*, 1999).

O phyA é considerado do tipo I e se acumula predominantemente em plantas crescidas no escuro e ambiente sombreado, sendo este, fotolábil. Os demais fitocromos, incluindo o phyB1, e phyB2, classifica-se como tipo II e são fotoestáveis (Terry & Kendrick, 1996; Muramoto *et al.* 2005; Van Tuinen *et al.*, 1995). Sabe-se que os espectros V e VE da radiação solar, provocam alterações fisiológicas, estruturais e ultra-estruturais que podem determinar a formação de características típicas de plantas de sol e sombra (Melo *et al.*, 2011) fundamentando a hipótese da modulação morfofisiológica das respostas à radiação pela família dos fitocromos A e B em tomateiro, hortaliça utilizada como modelo de estudo.

A disponibilidade atual de plantas mutantes fotomorfogénicas específicas para determinados fotorreceptores permite refinar o entendimento do papel de cada um dos fotorreceptores sobre o desenvolvimento vegetal, inclusive nas alterações morfofisiológicas desencadeadas pela condição sol/sombra. Por exemplo, Van Tuinen *et al.* (1995a) verificaram que mutantes *fri*, quando expostos a radiação VE ou cultivados em sombra, após germinação no escuro, passam por estiolamento relevante, entretanto, quando crescidos sob luz branca, seu fenótipo é semelhante ao exemplar selvagem. Em mutantes *tri*, quando expostos a luz V, promovem um alongamento do hipocótilo. Sob radiação VE, os mutantes apresentam-se consideravelmente maiores que o genótipo selvagem.

Como resultado, são evidentes as expectativas que recaem sobre esse tema, de modo que a relação entre fitocromos e a sinalização da intensidade e qualidade da radiação se tornou a principal hipótese a ser considerada.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Estudar o papel dos fitocromos A, B1 e B2 nas respostas morfofisiológicas em tomateiros mutantes fotomorfogenéticos *fri*, *tri* e *phyB2* cultivados em condição de sol e sombra.

Objetivos específicos

- Observar as alterações nos tomateiros do genótipo controle, *fri*, *tri*, *phyB2* quando cultivados nas condições de sol e sombra.
- Avaliar os parâmetros morfométricos (altura, número de folhas, número de ramos laterais, comprimento e largura da maior folha, espessura e comprimento do entrenó, partição de fotoassimilados e tamanho dos frutos).
- Analisar os dados relativos à fisiologia (taxas de fotossíntese, condutância estomática, transpiração, parâmetros de fluorescência da clorofila e conteúdo de clorofila e carotenoides)
- Avaliar os parâmetros anatômicos (espessura de células epidérmicas da face abaxial e adaxial, espessura do parênquima paliçádico e esponjoso, índice estomático das faces abaxial e adaxial, densidade estomática das faces abaxial e adaxial, espessura do xilema e área do elemento de vaso caulinar).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O desenvolvimento vegetal é fortemente influenciado pelo ambiente circundante, consequentemente as plantas necessitam de mecanismos eficientes para perceber, elucidar e se adaptar as diferentes mudanças nas condições ambientais (Gratani *et al.*, 2006). Dentre os diversos sinais interpretados pelas plantas, as informações acerca da intensidade, qualidade e duração da radiação luminosa, resultam diretamente em respostas fisiológicas diversas, tais como expansão e anatomia foliar, acúmulo de biomassa, altura, germinação de sementes, síntese de clorofilas e floração (Fankhauser & Chory, 1997). O controle da luz sobre o desenvolvimento vegetal é denominado fotomorfogênese (Kendrick & Kronenberg, 1994).

As respostas estruturais e fisiológicas das plantas às modificações do ambiente em que se encontram, à exemplo das variações de luminosidade, caracterizam-se por um mecanismo de aclimação vegetal, importante para que a radiação solar seja utilizada da maneira mais eficiente possível (Searle *et al.*, 2011). Os mecanismos de aclimação vegetal podem ser facilmente percebidos em diferentes ambientes florestais e até mesmo entre folhas de sol e sombra de um mesmo indivíduo, especialmente no que diz respeito à taxa de assimilação de CO₂ por área (Lichtenthaler *et al.*, 2007). As diferenças na taxa de assimilação de CO₂ entre as folhas também estão relacionadas com as diferenças nas concentrações de nitrogênio (Takashima *et al.*, 2004). Em plantas cultivadas a pleno sol, maior parte do conteúdo deste elemento está associado ao aparato fotossintético investidos numa maior concentração de pigmentos fotossintéticos por área foliar (Sarijeva *et al.*, 2007). Rossato *et al.*, (2009) observaram que folhas de sol apresentaram um maior rendimento quântico do fotossistema II aliados a uma maior proporção de centros de reação abertos e uma maior condutância estomática comparativamente às folhas de sombra.

A exposição de algumas espécies arbóreas jovens a pleno sol proporciona o aumento da temperatura foliar, diminuindo significativamente as taxas de assimilação máxima de carbono

(Franck & Vaast, 2009). Por outro lado, baixas intensidades luminosas não oferecem quantidade adequada de energia, limitando, também o funcionamento da fotossíntese (Gonçalves *et al.*, 2001). Para superar as constantes mudanças ambientais, as plantas exibem diferenças quanto à plasticidade morfológica e fisiológica quando submetidas a diferentes intensidades de radiação. Plantas aclimatadas a ambientes com baixo nível de radiação podem manter o balanço adequado de ganho de carbono, à exemplo da alocação de maiores quantidades de biomassa para as folhas, redução na taxa de respiração no escuro e aumento da área foliar específica mantendo razoável a taxa fotossintética (Wang *et al.*, 2007). Por outro lado, sob condição de alta irradiância as plantas utilizam vários mecanismos para evitar fotodanos, como a evitação da luz pelo movimento das folhas e cloroplastos, a emissão do excesso de energia como calor, diminuição da atividade do fotossistema II, e a utilização de outros aceptores de elétrons além do NADP⁺ (Takahashi & Badger, 2011).

As diferenças fisiológicas observadas entre folhas de sol e sombra também são determinadas, em parte, pelas diferenças na estrutura foliar (Gratani *et al.*, 2006). Por ser um órgão plástico a estrutura interna das folhas de um indivíduo aclimata-se às condições externas do ambiente visando uma melhor eficiência do aparato fotossintético, sendo a área foliar específica um parâmetro relacionado ao investimento em estruturas foliares (Hanba *et al.*, 2002; Schluter *et al.*, 2003). Muitos estudos têm demonstrado que os menores valores dessa variável são encontrados geralmente em condições de alta luminosidade (Markesteyn *et al.*, 2007, Sarijeva *et al.*, 2007). A maior espessura do parênquima paliçádico e esponjoso é uma característica marcante em folhas de sol quando comparadas às folhas de sombra (Terashima *et al.*, 2001) . Esses parênquimas possuem grande capacidade de respostas aos estímulos da radiação, influenciando assim, na espessura do limbo foliar, que ocorre em função do padrão de expansão das células do mesofilo ou do aumento no número de camadas das células do parênquima paliçádico, importantes à canalização e distribuição da luz no mesofilo, de forma a manter a eficiência de captação

luminosa e ao mesmo tempo se proteger de excesso de radiação que poderia desencadear danos fotooxidativos (Kim *et al.*, 2005).

Quantidades de clorofilas são parâmetros bastante influenciados pelos níveis de sombreamento (Nakazono *et al.*, 2001), e muitos autores relatam um aumento de clorofilas à medida que aumenta o nível de sombra, bem como a diminuição da razão clorofila a:b (Nakazono *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2006). A redução na quantidade de clorofilas em condições de alta radiação ocorre em função dos processos foto-oxidativos (Hendry & Price, 1993). A diminuição da razão clorofila a:b, à medida que diminui a radiação, é decorrente do aumento do espectro VE nessas condições, aumentando a atividade do fotossistema II, que é mais rico em clorofila *b* do que em clorofila *a* (Anderson, 1986), atuando, portanto, como um sistema de aclimação das plantas a ambientes com predomínio do espectro VE (Chow *et al.*, 1990). A largura e o comprimento de cloroplastos também são influenciados pelos espectros V e VE da radiação. Kasperbauer & Hamilton (1984) relataram que o comprimento de cloroplastos em plantas de tabaco expostas a radiação VE eram maiores que das plantas expostas a radiação V, e o número de cloroplastos reduzia sob radiação VE.

O padrão de crescimento das plantas também varia em função do ambiente a que são submetidas. As plantas expostas a pleno sol geralmente exibem menor altura quando comparadas às plantas submetidas a ambientes sombreados, conforme observado em cafeeiro (Paiva *et al.*, 2003) e copaíba (Dutra *et al.*, 2012). Esta resposta pode ser atribuída ao efeito da intensidade e qualidade dos espectros da radiação, especialmente os espectros V e VE. Em muitos estudos morfológicos, alta proporção V:VE inibe fortemente o alongamento da planta enquanto a queda dessa proporção, característica de ambientes sombreados, proporciona um alongamento proeminente do caule (Kurepin *et al.*, 2007). Em tomateiros, o aumento na proporção V:VE da radiação, ocasionada pela interrupção da noite com luz V, promoveu uma redução significativa da altura da planta (Cao *et al.*, 2016).

Dentre vários processos que necessitam de luz para ocorrer a exemplo dos mecanismos de aclimação, germinação de sementes, fotossíntese, expansão foliar, inibição do alongamento do hipocótilo e floração, estão relacionados a intensidade, qualidade, direção e duração da radiação, parâmetros estes percebidos através dos fotorreceptores.

Os primeiros estudos com fotorreceptores ocorreram em 1950, mediante pesquisas envolvendo o efeito da luz vermelha e vermelho-extremo sobre a germinação de sementes de alface. O fitocromo foi o primeiro deles a ser identificado, sendo uma cromoproteína fotorreversível: sua forma F_V (inativa) absorve a radiação em comprimentos de onda na região do vermelho (650 a 670 nm) e se converte na forma F_{VE} (isômero biologicamente ativo). Embora F_V absorva muito pouco no comprimento de onda do azul, esse comprimento de onda também converte F_V em F_{VE} que, por sua vez, é capaz de absorver a luz na região do vermelho-extremo (705 a 730 nm) e retornar à sua forma inicial F_V . A reversão de F_{VE} a F_V também pode ocorrer no escuro (Figura 1). Entretanto, essa conversão não é total, ocorrendo em 97% do fitocromos que estavam na forma F_{VE} à F_V enquanto que o espectro do V, converte 85% de F_V para a forma F_{VE} (Borthwick *et al.* 1952; Borthwicks *et al.* 1954; Borthwick 1957; Butler *et al.* 1959; Borthwick & Hendricks 1960; Chen *et al.*, 2004).

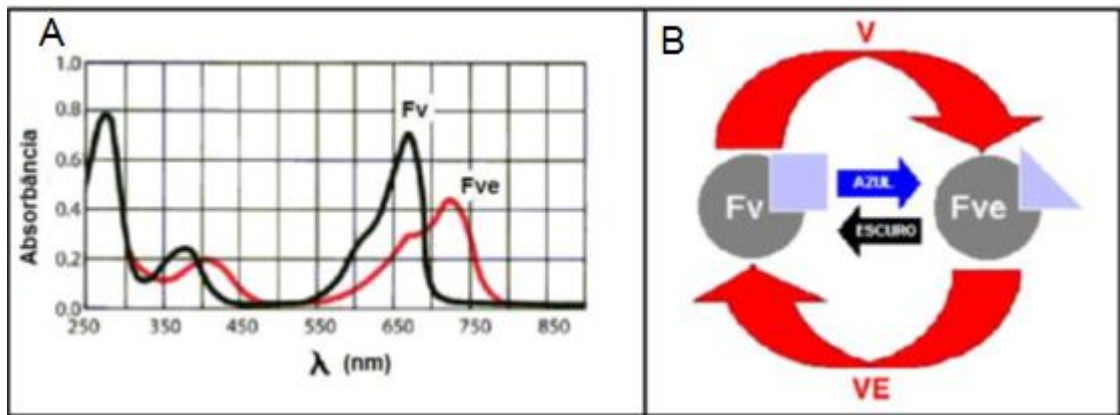


Figura 1: (A) Picos de absorção do fitocromo na forma inativa (F_v) em vermelho (V) (660 nm) e forma ativa (F_{VE}) em vermelho-extremo (VE) (730 nm). F_v e F_{VE} também pode absorver um pouco do comprimento de onda do VE e V, respectivamente. (B) A fotoconversão da forma do fitocromo F_v a F_{VE} é induzida por comprimento de onda do V e por luz azul, e a reversão de F_{VE} a F_v é induzida por comprimento de onda do VE e também pelo escuro. (Imagem extraída de Carvalho, 2003)

O fitocromo é uma proteína solúvel, formada pela dimerização de duas subunidades idênticas. Cada um dos monômeros é composto por uma cadeia polipeptídica (apoproteína) carregando uma molécula de pigmento chamada cromóforo, responsável pela absorção de luz. O cromóforo do fitocromo é um tetrapirrol linear denominado fitocromobilina, sintetizado nos plastídios. Ao ser exportada do plastídio para o citosol, o cromóforo se liga à apoproteína de forma autocatalítica, formando a holoproteína (Li & Lagarias 1992; Kevei *et al.* 2007). As apoproteínas PHY são codificadas por uma pequena família de genes nas angiospermas. Por exemplo, *Arabidopsis thaliana* contém 5 genes PHY: PHYA, PHYB, PHYC, PHYD, PHYE que codificam, respectivamente, as apoproteínas PHYA a PHYE, as quais após se ligarem ao cromóforo formam os fitocromos phyA, phyB, phyC, phyD, phyE, respectivamente (Bae & Choi, 2008). Em tomateiros também foram encontrados 5 genes para apoproteínas PHYA, PHYB1, PHYB2, PHYE, PHYF enquanto o arroz possui apenas três (PHYA, PHYB, PHYC) (Pratt *et al.*, 1997). Os diferentes tipos de fitocromos, regulam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta, e podem diferenciar-se quanto à regulação fotomorfogênica dos diferentes órgãos (Tóth *et al.*, 2001).

No citosol, o fitocromo é dimerizado em seu estado inativo F_V. A absorção de luz vermelha pelo cromóforo faz com que este sofra uma isomerização da forma *cis* para a *trans*, através do movimento de um dos seus anéis, promovendo uma alteração conformacional na holoproteína para seu estado fisiologicamente ativo F_{VE}. Esta mudança faz com que sequências de localização nuclear sejam expostas, movendo o *pool* de fitocromos para o núcleo, onde ele é capaz de regular a expressão gênica (Quail 2002; Nagatani, 2004; Chen *et al.*, 2005; Kevei *et al.*, 2007; Fankhauser & Chen, 2008).

Um mecanismo primário de sinalização dos fitocromos envolve a interação física com os fatores de interação com fitocromos (PIFs), os quais representam uma família de fatores de transcrição tipo *basic helix-loop-helix* (bHLH). No núcleo, os PIFs se ligam diretamente aos fitocromos ativados e tem a capacidade de controlar diretamente ou indiretamente a expressão de genes regulados pela luz (Castillon *et al.*, 2007).

Quanto à estabilidade à luz, os fitocromos têm sido classificados em dois tipos. O tipo I, constituído pelo *phyA*, fotolábil, se degrada rapidamente quando expostos a luz forte. O tipo II é fotoestável, e engloba os demais fitocromos (Sharrock e Clack, 2002).

Baseadas na energia de radiação, as respostas aos fitocromos são consideradas de baixa fluência (RBF), muito baixa fluência de radiação (RFMB), e respostas de alta irradiância (RIA) (Shinomura *et al.*, 2000). As RBF, são caracterizadas pela fotorreversibilidade da resposta em função do último espectro de radiação fornecido, V ou VE, que são clássicas do fitocromo, desde que não ultrapassado o limite de tempo para determinação da resposta. RFMB, não são fotorreversíveis devido não haver acúmulo de 100% dos fitocromos na forma F_V. A RIA, necessita de alta frequência de radiação para promover a resposta. O fitocromo A é responsável pela RFMB e RIA enquanto o fitocromo B, pela RBF e RIA durante a fotomorfogênese (Shinomura *et al.*, 2000).

Os fitocromos estão relacionados a várias respostas morfológicas e fisiológicas durante o desenvolvimento vegetal, além de subsidiar o entendimento dos processos que influenciam na formação de características típicas de folhas de sol e sombra (Kim *et al.*, 2005), podendo ser evidenciados através de mutantes deficientes na percepção da radiação. A superexpressão de phyB aumentou a fotossíntese, condutância estomática e transpiração em plantas de batata em condições de campo (Boccalandro *et al.* 2003). O phyA é um fator fundamental na aumento do diâmetro dos elementos de vasos de tomateiros, tendo importância no aumento do transporte da água até às folhas em plantas sujeitas a condições de alta transpiração (Auge *et al.*, 2012; D'amico-Damião *et al.*, 2015).

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), além de sua evidente importância econômica, possui diversas características que o tornam um importante modelo de planta para estudos genéticos e fisiológicos, pois é uma espécie com um genoma relativamente compacto distribuído em 12 cromossomos, vasta coleção de germoplasma conhecida e protocolos de transformação altamente eficientes. O tomateiro ainda é indicado como um modelo vegetal alternativo à *Arabidopsis thaliana* (L.) por possuir características como um fruto carnoso climatérico, folhas compostas, tecidos que facilitam análises bioquímicas, padrão morfogenético semelhante à maioria das angiospermas, com órgãos bem visíveis como caules e pecíolos, além de possuírem uma gama de mutações fotomorfogenéticas (Sun *et al.*, 2006; Mueller *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2010).

Uma das formas mais específicas para definir a função de um gene é através da análise das mudanças ocorridas no organismo quando um gene sofre mutação. O isolamento de mutantes que apresentam alterações fenotípicas específicas pode oferecer uma poderosa ferramenta para esclarecer os passos de uma cadeia de transdução de sinais, como é o caso das respostas de fotomorfogênese (Emmanuel & Levy, 2002). Os estudos de fotomorfogênese podem ser feitos utilizando, portanto, mutantes, que podem ser específicos para síntese de fotorreceptores, ou para

via de transdução de sinais, e assim, elucidar os processos fisiológicos dependentes da radiação solar (Van Tuinen *et al.*, 1997).

Um maior número de pesquisas envolvem o mutante de tomateiro *aurea*, o qual é deficiente no *pool* de fitocromos A e na síntese de cromóforo o que o torna deficiente em todos os fitocromos. Alguns mutantes possuem mutação na via de transdução de sinais, os mutantes *high pigment1 (hp1)* e *atroviolaceae (atv)*, que apresentam hipersensibilidade a respostas mediadas por fitocromo, assim sendo, as respostas são amplificadas nestes mutantes (Lieberman *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2004).

Existem ainda, mutantes deficientes em fitocromos específicos como o mutante *phyB2*, que apresenta deficiência no gene que codifica a apoproteína PHYB2 do fitocromo B2 (Kerckhoffs *et al.*, 1999), o mutante *tri (temporary red insensitive)* que apresenta deficiência no phyB1 (Van Tuinen *et al.*, 1995), o mutante *fri (far red insensitive)*, o qual é deficiente em phyA (Van Tuinen *et al.*, 1995a).

Tomateiros mutantes *fri* são insensíveis ao comprimento de onda do vermelho-extremo (Lazarova *et al.*, 1998). A função do phyA observada nos mutantes *fri* é equivalente àquela fornecida pelos mutantes deficientes no phyA em *Arabidopsis*. A deficiência no acúmulo de phyA sob VE, promove um estiolamento proeminente nos mutantes, e quando cultivados sob luz branca o mutante é quase indistinguível ao genótipo selvagem (Van Tuinen *et al.*, 1995a), elucidando uma função limitada do phyA na fotomorfogênese, restrita a radiação VE.

Os mutantes recessivos *tri* e *phyB2* é descrito como sendo deficiente na percepção do comprimento de onda do vermelho. O fitocromo tipo B está envolvido na percepção de plantas crescidas em luz V, inibindo o alongamento do hipocótilo. Tomateiros mutantes que exibem hipocótilo alongado sob esse comprimento de onda, são deficientes no acúmulo de phyB1. A função de phyB na inibição do alongamento do hipocótilo sob luz V também é observada em plantas de *Arabidopsis* (Van Tuinen *et al.*, 1995b).

A exploração bioquímica-fisiológica de mutantes fotomorfo genéticos, tais como *fri* (far red insensitive), *tri* (temporary red insensitive) e *phyB2*, os quais são deficientes na biossíntese das apoproteínas PHYA, PHYB1 e PHYB2 do fitocromo respectivamente, tem demonstrado características importantes dos fitocromos no controle do desenvolvimento vegetal (Van Tuinen *et al.* 1995b).

Poucas pesquisas abordam uma relação direta do fitocromo com a morfologia foliar, sendo algumas contraditórias. Robson *et al.* (1993), notaram que a área foliar em plantas de *Arabidopsis* deficientes em fitocromo B quando expostas tanto a radiação V quanto VE, eram maiores que o genótipo selvagem. Entretanto, Kim *et al.*, (2005) relataram que, nessas mesmas condições, a área foliar dos mutantes foi menor. Embora Nagatani *et al.* (1993) não tenha encontrado efeitos de *phyA* sobre alterações na morfologia foliar, Smith *et al.* (1995) reporta que o *phyA* e *phyB* podem controlar o alongamento polar de células. Pesquisas envolvendo folhas de *Arabidopsis thaliana* deficientes em *phyB* apontam que a essa mutação seja responsável pela redução no número e no tamanho das células dos tecidos do mesófilo, resultando em folhas menos espessas que aquelas do grupo controle (Tsukaya *et al.*, 2002).

Melo *et al.* (2009), observaram que as áreas dos cloroplastos de microtomateiros mutantes *hpl* e *atv* apresentaram redução no parênquima lacunoso comparativamente ao paliçádico.

Sabe-se que o *phyB* está envolvido no processo de alongamento celular, Tsukaya *et al.* (2002), relataram que o *phyB* tiveram efeitos no alongamento dos pecíolos de folhas de *Arabidopsis thaliana*, quando expostas em luz de baixa frequência. Entretanto, em condições de escuro, verifica-se que o *phyA* é o fotorreceptor que se encontra mais envolvido no estiolamento de plântulas (Hall *et al.*, 2001; Tóth *et al.*, 2001).

O alongamento do hipocótilo, foi observado por Kerckhoffs (1996), quando o mutante *tri* foi cultivado sob luz branca, indicando uma função do *phyB1* no alongamento de

plantas. No entanto, em condições de escuro, o *phyA*, é o fotorreceptor que está mais envolvido no estiolamento de plântulas (Hall *et al.*, 2001).

O fitocromo tipo B está envolvido na regulação da germinação de sementes. Sementes de *Arabidopsis* selvagem apresentam reversibilidade V/VE durante a germinação. Mutantes deficientes no acúmulo de phyB são incapazes de responder a luz V, entretanto, mutantes dessas plantas que perdem o phyA respondem normalmente a luz vermelha, sugerindo que o phyB modula a fotorreversibilidade durante a germinação das sementes (Shinomura *et al.*, 1996).

Weller *et al.* (2001) avaliou a interação entre os fitocromos A, B1 e B2 em plantas de tomateiro. Os mutantes deficientes em fitocromo B1 exibiram maior alongamento do hipocótilo, em contrapartida, a perda de fitocromo A e B2 em indivíduos que mantiveram o phyB1 ativo, não promoveram efeitos significativos no alongamento do hipocótilo. Diferenças expressivas foram observados em mutantes duplos *phyB1phyB2*, e mutantes triplos *phB1phyB2PhyA* que exibiram hipocótilos excepcionalmente maiores, demonstrando redundância parcial entre phyB1 e phyB2. Níveis de antocianina também foram avaliados, Weller *et al.* (2001) observaram que phyB1 está relacionado com a estimulação da produção de antocianinas, e o phyA um regulador negativo. Mutantes duplos *phyAphyB1*, exibiram baixos níveis de produção de antocianinas, ao passo que os mutantes duplos *phyAphyB2* apresentaram altas concentrações, elucidando a forte interação entre os fitocromos A, B1 e B2, sendo variáveis de acordo com o evento em questão (Weller *et al.*, 2001).

Kerckhoffs *et al.* (1999) no estudo com fitocromos A, B1 e B2, observaram que mutantes duplos *phyAphyB1* exibiram fenótipos semelhantes ao exemplar selvagem sugerindo funções de outros fotorreceptores mediando as repostas na ausência de phyA e phyB1. Foi observado fenótipo alongado e clorótico deficientes em antocianina, e com frutos alongados e clorótico na fase imatura do mutante deficiente em phyB2 (Kerckhoffs *et al.*, 1999), em consonância com os frutos

observados no mutante *aurea*, que é deficiente na síntese do cromóforo, sendo deficientes para todos os tipos de fitocromos (Terry & Kendrick, 1996).

Linhagens de tomateiros que apresentam níveis mais elevados de phyB1 e phyB2 submetidos a luz branca, resultou em hipocótilos e hastes mais curtos, bem como níveis mais elevados de antocianinas em comparação com o genótipo selvagem. Em contrapartida, mutantes duplos deficientes em phyB1phyB2 exibiram hipocótilos e hastes mais alongados e níveis de antocianinas reduzidos (Husained *et al.*, 2007).

Algumas características de forte valor agroindustrial são amplificadas nos mutantes *fri* e *tri*. Comparado ao genótipo selvagem, a deficiência em phyA proporciona um incremento da massa fresca e dos sólidos solúveis, bem como redução no número de sementes por fruto, enquanto a perda de phyB promove um número maior de frutos por planta (Alba *et al.*, 1999). Ao mesmo tempo, a caracterização fisiológica desses mutantes mostra severas alterações morfológicas. Observa-se o fato de que, mesmo em condições bem hidratadas, o mutante *fri* apresenta um aspecto murcho sob altas temperaturas (Auge *et al.*, 2012). Pesquisas recentes com mutantes *fri* abordam o papel dos fitocromos na nutrição de plantas, sendo o phyA importante na sinalização luminosa e estresse nutricional em tomateiros (Carvalho *et al.*, 2016).

Fitocromos estão envolvidos em respostas de evitação à sombra (Casal, 2012), no entanto, se a intensidade da luz for muito baixa, a folha não aclimata o suficiente, causando amarelecimento foliar e consequente senescência (Brouwer *et al.*, 2012). Plantas que superexpressam phyA ou phyB exibem um atraso no amarelecimento das folhas, ao passo que deficientes em phyA exibiram forte amarelecimento foliar em resposta à sombra (Brouwer *et al.*, 2012). Esta resposta está em concordância com o observado por Brouwer *et al.* (2014) em mutantes deficientes em phyA submetidos ao sombreamento parcial, em que a deficiência de phyA está relacionada com a diminuição na expressão de genes da biossíntese de clorofilas, contudo, em sombreamento total o phyB parece estar mais envolvido nas respostas de evitação à sombra.

O fitocromo é conhecido por estar envolvido no controle de enzimas relacionadas ao aparato fotossintético como aquelas ligadas às clorofilas *a* e *b* e subunidades da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (rubisco) (Dale, 1988).

Em folhas de mamoeiro, a redução na razão V:VE reduziu a razão de clorofila *a/b* e aumentou o conteúdo de clorofila total, quando comparada a alta radiação, sem uso de filtros do espectro vermelho. Entretanto, esse mesmo conteúdo foi menor em relação às plantas do tratamento com filtro para luz V e VE, sem que houvesse variação do balanço V:VE. Essas alterações foram atribuídas a um provável efeito do balanço espectral sobre o equilíbrio dos diferentes tipos de fitocromo (Buisson & Lee, 1993)

Reed *et al.* (1993) relataram que plantas de *Arabidopsis* deficientes em phyB tinham uma menor concentração de clorofila associada ao menor número de cloroplastos por célula. Em consonância com esses resultados, o mutante de tomateiro que superexpressa phyB, *Dara-5*, o teor de clorofila total foi superior ao genótipo selvagem. A condutância estomática e a atividade fotossintética também foram superiores nesse mutante, atribuída a maior densidade estomática dessas plantas mutantes (Schittenhelm *et al.*, 2004)

Van Tuinen (1995b), analisaram a quantidade de antocianina e clorofila, o alongamento do hipocótilo e a área do cotilédone sobre V, VE, azul, e escuro nos mutantes *tri*. Sob escuro e VE, nenhuma diferença das variáveis foi notada. Nos tratamentos com luz V, os mutantes, apresentaram maior alongamento do hipocótilo, redução no acúmulo de antocianina no hipocótilo, e mesmo com uma redução na área do cotilédone, este apresentou maior quantidade de clorofila acumulada. E sob luz azul, os mutantes apresentaram pouco alongamento do hipocótilo, comparativamente ao genótipo selvagem.

Além de suas funções na fotomorfogênese, estudos recentes têm associado o fitocromo a uma gama de respostas a estresses abióticos, como a seca e extremos de temperatura (Carvalho *et al.*, 2011). Auge *et al.* (2012) constataram que os mutantes *fri*, cultivados em condições de altas

temperaturas, exibiu valores de condutância estomática extremamente reduzidos. Resposta observada também por D'amico-Damião *et al.* (2015) em condições de déficit hídrico, e nas mesmas condições o mutante *phyB2* teve reduzida densidade estomática. Estudos com plantas de arroz deficientes em *phyB1* e *phyB2* evidenciaram que estes genótipos tinham área foliar significativamente menor que o genótipo selvagem com redução na perda de água e consequentemente uma maior tolerância ao estresse hídrico (Liu *et al.*, 2012)

Plantas de batata (*Solanum tuberosum*) que superexpressam *phyB*, exibiram maior condutância estomática e maior taxa fotossintética por unidade de área foliar, melhorando o rendimento dos tubérculos, comparativamente ao genótipo selvagem (Boccalandro *et al.*, 2003).

O fotoequilíbrio entre a absorção de luz V e VE pelos fitocromos, além de estar associado ao desenvolvimento vegetal, também pode regular a alocação de fotoassimilados (Kasperbauer & Hunt, 1988). Melo *et al.* (2013) observaram que no mutante *hp1*, o qual tem respostas de hipersensibilidade à luz, a alocação dos fotoassimilados, ocorreu prioritariamente em raízes e folhas, quando comparados aos demais órgãos, e no mutante *aurea*, deficiente em todos os fitocromos, ocorreu prioritariamente em frutos comparativamente aos demais órgãos. Em tomateiros que superexpressam *phyA*, *phyB1* e *phyB2* foi relatado que a superexpressão de *phyB2* induzia redução na alocação de fotoassimilados para caules e raízes enquanto que a superexpressão de *phyB1* induzia a priorização da alocação em raízes ao invés de caules (Husaineid *et al.*, 2007)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cultivo dos tomateiros

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Goiás – Câmpus Samambaia em casa de vegetação localizada na área do Departamento de Botânica. As sementes dos tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) do genótipo selvagem *Moneymaker* (MM), utilizado para controle experimental e seus fitocromo-mutantes *fri*, *tri*, *phyB2* foram gentilmente cedidas pelo prof^o Dr. Rogério Falheiros Carvalho (Universidade Estadual Paulista – Campus Jaboticabal). As sementes foram semeadas em bandejas de germinação contendo substrato comercial (Bioplant®, Nova Ponte-MG, Brasil) e regados diariamente mantendo o substrato sempre úmido.

Após a emergência da primeira folha não-cotiledonar, as mudas que apresentavam similaridade em porte e vigor foram transplantadas para vasos de 10 litros contendo substrato composto por solo latossolo vermelho escuro com as seguintes características: pH (CaCl₂) 5.2; P disponível (Mehlich I): 2.3 mg kg⁻¹; K: 50 mg kg⁻¹; Ca: 5.7 cmolc kg⁻¹; Mg: 0,5 cmolc kg⁻¹; capacidade de troca catiônica (CTC) 9.4 cmolc kg⁻¹ e matéria orgânica (MO) 30 g kg⁻¹. As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação com cobertura transparente e em ambiente sombreado.

O ambiente foi sombreado com telas de polietileno pretas comercialmente indicadas para um nível de sombreamento de 50%. No ambiente de cultivo a intensidade da radiação efetiva foi mensurada por meio de um quantômetro-fotômetro-radiômetro LI-COR, modelo LI-185, equipado com um sensor quântico, sendo a radiação solar expressa em $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. No ambiente de pleno sol, foi observada intensidade média de $1.050 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e ambiente sombreado, $660 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, medido às 12:00 horas em dia ensolarado.

A temperatura e a umidade relativa do ar nos ambientes de cultivo foram avaliadas com termohigrômetro modelo TFA Dostmann®, Wertheim, Alemanha. No ambiente sombreado foi observada temperatura variável durante o dia com mínima de 29° C e máxima de 33 °C, e umidade relativa do ar de 53% à 70%, ao passo que durante a noite a temperatura alcançou mínima de 22°C e máxima de 26°C. No ambiente a pleno sol, a temperatura oscilou de 29° C à 44°C e umidade relativa do ar de 35% a 60% durante o dia; durante a noite a temperatura mínima foi 22°C e máxima 26°C.

Após o transplântio das mudas, foi realizado adubação mensal do solo com adubo comercial NPK (nitrogênio, fósforo, potássio) na fórmula comercial 10:10:10, aplicando-se 5 g do composto em cobertura, e adubação foliar utilizando borrifador manual com uma solução diluída 10 vezes a partir da solução estoque Dimy®, composta de nitrogênio, fósforo e potássio, na fórmula comercial 10:10:10.

Os vasos foram regados diariamente mantendo o substrato sempre úmido.

4.2 Parâmetros morfométricos

Os dados relativos aos parâmetros morfométricos foram obtidos nas fases vegetativa (28 dias após exposição ao tratamento – sol e sombra) e reprodutiva (45 dias após exposição ao tratamento), utilizando paquímetro e fita métrica. As variáveis analisadas foram altura (cm), número de folhas, comprimento e largura da maior folha (cm), número de ramos laterais, altura e espessura do entrenó (cm) posicionado entre as maiores folhas que ocorriam entre o 6º ou 7º nó da base para o ápice. Foram avaliadas as 5 maiores plantas de cada genótipo em cada tratamento (sol e sombra).

As avaliações de comprimento e largura das folhas, comprimento e espessura do entrenó ocorreram no 6º ou 7º nó da base para o ápice, das 5 maiores plantas de cada genótipo e tratamento. Os dados referentes à altura, número de folhas e número de ramos laterais foram obtidos das 5 maiores plantas de cada genótipo em ambos os tratamentos.

Os dados relativos à massa seca foram obtidos com coletas ao final do estágio vegetativo (45 dias após exposição ao tratamento) e final da frutificação (130 dias após exposição ao tratamento). Em cada coleta, os órgãos foram separados e aos 45 DAE, as folhas foram submetidas à análise de área foliar, determinada com medidor portátil LI-COR modelo LI-3000 (Licor®, Nebraska, EUA). Em seguida, os órgãos foram acondicionados separadamente em envelopes de papel pardo e submetidos à secagem em estufa de ventilação forçada, à temperatura de 65 °C até atingir massa constante. Durante o estágio de frutificação, os frutos maduros foram colhidos à medida que amadureciam e submetidos à secagem.

Com os dados de massa seca, foram calculadas a relação raiz:massa seca total (massa seca da raiz/massa seca total da planta), caule:massa seca total (massa seca do caule/massa seca total), folha:massa seca total (massa seca da folha/massa seca total), fruto:massa seca total (massa seca do fruto/massa seca total) o que permitiu inferir a partição de fotoassimilados órgão:planta.

Para análise do tamanho dos frutos, cinco plantas de cada genótipo foram selecionadas e o maior fruto de cada uma das plantas foram colhidos e medidos com paquímetro quanto aos parâmetros de altura (cm) e largura (cm).

4.3 Análises fisiológicas

Os dados relativos às trocas gasosas foram coletados na fase vegetativa (28 dias após o tratamento sol/sombra), ao final da fase vegetativa (37 dias após exposição ao tratamento) e frutificação (55 dias após exposição ao tratamento). As avaliações ocorreram no período da manhã

(entre 08h00min e 10h00min), realizadas na folha do 6º ou 7º nó da base para o ápice em 5 plantas de cada genótipo e tratamento, utilizando um analisador de gases infra-vermelho modelo LI-COR 6400XTR (Licor®, Nebraska, EUA) com temperatura do bloco de 24 °C e densidade de fluxo de fótons igual a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As variáveis analisadas foram as taxas de fotossíntese líquida (A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

A fluorescência da clorofila foi avaliada no final da fase vegetativa (28 dias após exposição ao tratamento) e início da floração (37 dias após exposição ao tratamento). As avaliações ocorreram no período da manhã, entre 10:00 e 11:00 horas, sendo avaliado o folíolo presente no 6º ou 7º nó da base para o ápice das mesmas 5 plantas de cada genótipo e tratamento selecionadas para análise de trocas gasosas. Os parâmetros de fluorescência foram realizados utilizando-se um fluorômetro modelo Hansatech PEA MK2, Kings Lynn, England. A região das folhas a serem analisadas foram submetidas a 20 minutos de escuro antes da análise, por meio de grampos adaptáveis à câmara do fluorômetro. Foi utilizado pulso de luz saturante de 3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com duração de 5 segundos. Os dados observados foram fluorescência inicial (F_0) e eficiência fotoquímica potencial do fotossistema II (F_v/F_m). A avaliação da eficiência fotoquímica efetiva foi realizada utilizando-se câmara de fluorescência do analisador de gases infra-vermelho modelo LI-COR 6400XTR (Licor®, Nebraska, EUA), utilizando-se pulso de luz saturante maior que 6000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, por 0.8 s, seguida de iluminação contínua de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Para quantificação de clorofilas e carotenoides, 150 g de folhas do 6º ou 7º nó das mesmas 5 plantas de cada genótipo e tratamento selecionadas para análise de fluorescência, foram coletadas às 8 horas e maceradas com 10 ml de acetona pura. Em seguida, foram realizadas as leituras de absorvância em espectrofotômetro monofeixe Bioespetro (São Paulo, BR). As leituras foram feitas em 480, 649 e 665 nm e utilizando as equações descritas por Wellburn (1994) para as determinações do conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, respectivamente. A concentração de pigmentos cloroplastídicos foi determinada por meio da extração com acetona 100% e metodologia descrita por Lichtenthaler (1987), ao final da fase vegetativa 37 DAE, e reprodutiva, 55 DAE.

4.4 Análises anatômicas

Aos 37 DAE (dias após exposição ao tratamento) e 55 DAE, folíolos localizados no 6º ou 7º nó da base para o ápice, e caule entre o 5º e 6º entrenó, foram coletados e fixados em FAA 50% (formaldeído + ácido acético + álcool etílico 50%) durante 72 horas e, posteriormente, conservados em álcool 50% até o momento da realização das análises anatômicas (Kraus & Arduim, 1997).

As secções transversais e paradérmicas da lâmina foliar foram realizadas a mão livre no terço médio da folha. Para clarificação das secções transversais utilizou-se água sanitária 10% e a coloração dos tecidos foi realizada com azul de Astra 0,3% e safranina 0,1% na proporção 9:1. As secções paradérmicas foram coradas com safranina 1%. Para montagem de lâminas semipermanentes utilizou-se glicerina 50% (Kraus & Arduim, 1997).

As amostras de caules foram desidratadas em série etílica crescente (70% - 100%), diafanizadas em álcool-acetato (3:1, 1:1, 1:3 e acetato puro), incluídas e emblocadas em Paraplast® (JOHANSEN, 1940). Em seguida, foram feitos cortes transversais (11 -13 µm de espessura) em micrótomo rotativo (Leica RM2245) e a fixação das secções às lâminas foi realizada com adesivo de Haupt (HAUPUT, 1930). Para desparafinização, as lâminas contendo cortes foram imersas em série butílica decrescente e desidratadas em série etílica (100% - 30%). Após a desparafinização, foram submetidas à coloração com azul de Astra 0,3% e safranina 0,1% na proporção 9:1 e montadas em glicerina 50%.

Para a avaliação dos tecidos e células da lâmina foliar foram utilizados folíolos de 4 plantas de cada genótipo e tratamento e observado 5 secções da folha de cada planta. As variáveis analisadas foram altura de células epidérmicas da face abaxial e adaxial, altura do parênquima paliçádico e esponjoso.

Para análise de tecidos e células caulinares foram utilizadas 4 plantas de cada genótipo e tratamento e observadas 5 secções do caule de cada planta, em cada secção foi mensurada a área dos 5 maiores elementos de vaso e a altura do xilema.

Para determinação do índice estomático, densidade estomática (estômatos mm²), densidade de células epidérmicas propriamente ditas (número de células mm²) foram utilizados folíolos coletados de 4 plantas de cada genótipo e tratamento, e cada folíolo foi analisado em 5 campos para cada face epidérmica, em campos com área correspondente a 0,077 mm². Os dados quantitativos da superfície epidérmica foram obtidos com auxílio do software Image-Pro Plus. O cálculo do índice estomático foi feito de acordo com a fórmula de Cutter (1986): índice estomático (IE) = $[NE/(CE + NE)] \times 100$, em que NE é o número de estômatos e CE o número de células epidérmicas propriamente ditas.

As análises foram realizadas com auxílio de microscópio Leica acoplado a câmera digital ICC50, com programa de captura de imagem e medição de tecidos LAD EZ versão 1.8.1., no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica/ICB/UFG.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e separados em classes distintas utilizando-se o

teste de Tukey a um nível de erro de 5%. Também empregou-se análise multivariada por meio da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA) via matriz de correlação.

5 RESULTADOS

5.1 Parâmetros morfométricos

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados relativos aos parâmetros morfométricos (28 DAE) explicaram 88,1% da variância total (Figura 2). O genótipo *tri* e o genótipo controle cultivados em sombreamento foram representados no primeiro quadrante, os genótipos *tri*, *phyB2* e controle cultivados em condições de sol representados no segundo quadrante. Tal representação indicou que a maior altura, o comprimento da maior folha, comprimento do entrenó, número de folhas são os parâmetros que se destacam na descrição dos genótipos selvagem e *tri* à sombra, enquanto a maior largura da maior folha, o número de ramos laterais, espessura do entrenó se destacaram nos genótipos selvagem, *phyB2* e *tri* cultivados à pleno sol. Os mutantes *phyB2* e *fri* cultivados em sombreamento presentes no terceiro quadrante destacaram-se pela menor largura da maior folha, número de ramos laterais, espessura do entrenó e mutante *fri* submetido a condições de sol, representado no quarto quadrante, caracterizou-se pelo menor comprimento da folha e do entrenó, bem como pelo menor número de folhas (Figura 2).

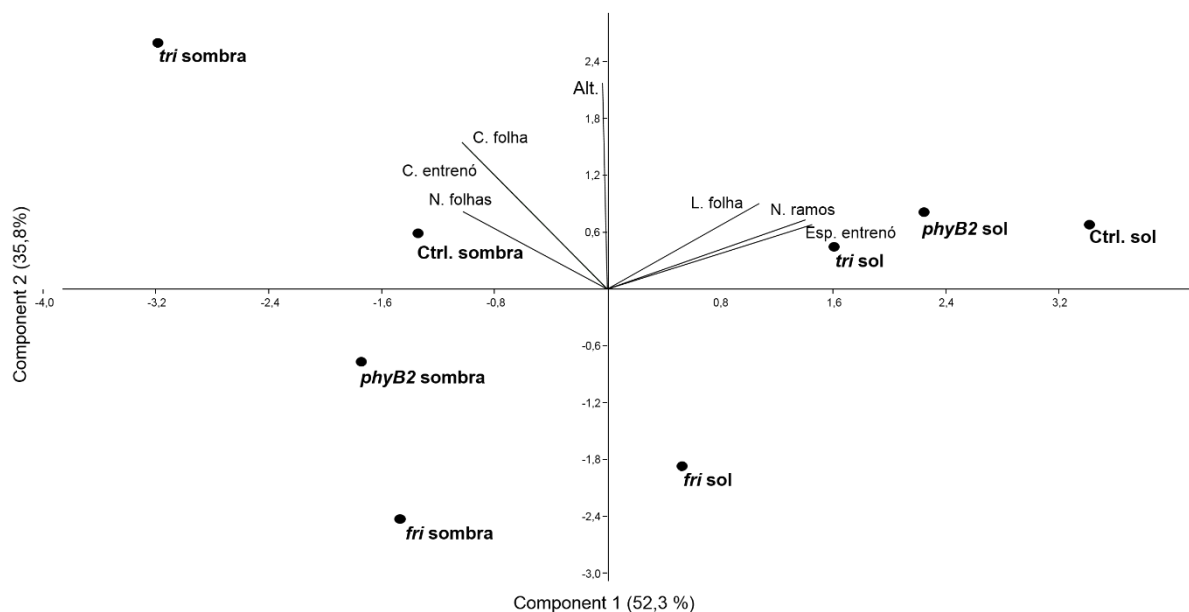


Figura 2: Biplot das variáveis altura (Alt.), comprimento (C. folha) e largura da maior folha (L. folha), número de folhas (N. folhas), comprimento do entrenó (C. entrenó) e espessura do entrenó (Esp. Entrenó) aos 28 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Verificou-se, aos 28 DAE, que o genótipo *tri* possui maior altura quando cultivado à sombra comparativamente àquele do sol, enquanto *phyB2* menor altura quando submetido ao sombreamento. Para todos os genótipos os parâmetros de número de folhas, número de ramos laterais, largura da maior folha e espessura do entrenó dos genótipos cultivados à sombra foram menores que daquelas cultivadas ao sol, à exceção do genótipo controle que não diferiu na largura da maior folha, o comprimento do entrenó tanto de plantas do tratamento controle quanto do mutante *tri* foram maiores na condição de sombra. (Figura 1 – material suplementar)

Entre os genótipos cultivados em condições de sol, observou-se menores valores de altura, número de folhas, número de ramos laterais e comprimento da maior folha, espessura do entrenó no mutante *fri* comparativamente aos demais genótipos. Dentre aqueles submetidos ao sombreamento, nenhum genótipo apresentou ramos laterais, e o mutante *fri* exibiu menores valores de altura, número de folhas, comprimento da maior folha e largura da maior folha em sombreamento, ao passo que não se observou diferenças desses parâmetros entre os demais genótipos, exceto quanto à altura da planta e comprimento do entrenó, em que o mutante *tri* exibiu maiores valores que os demais genótipos (Figura 1 – material suplementar). O aspecto fenotípico dos tomateiros aos 28 DAE pode ser observado na figura 3.

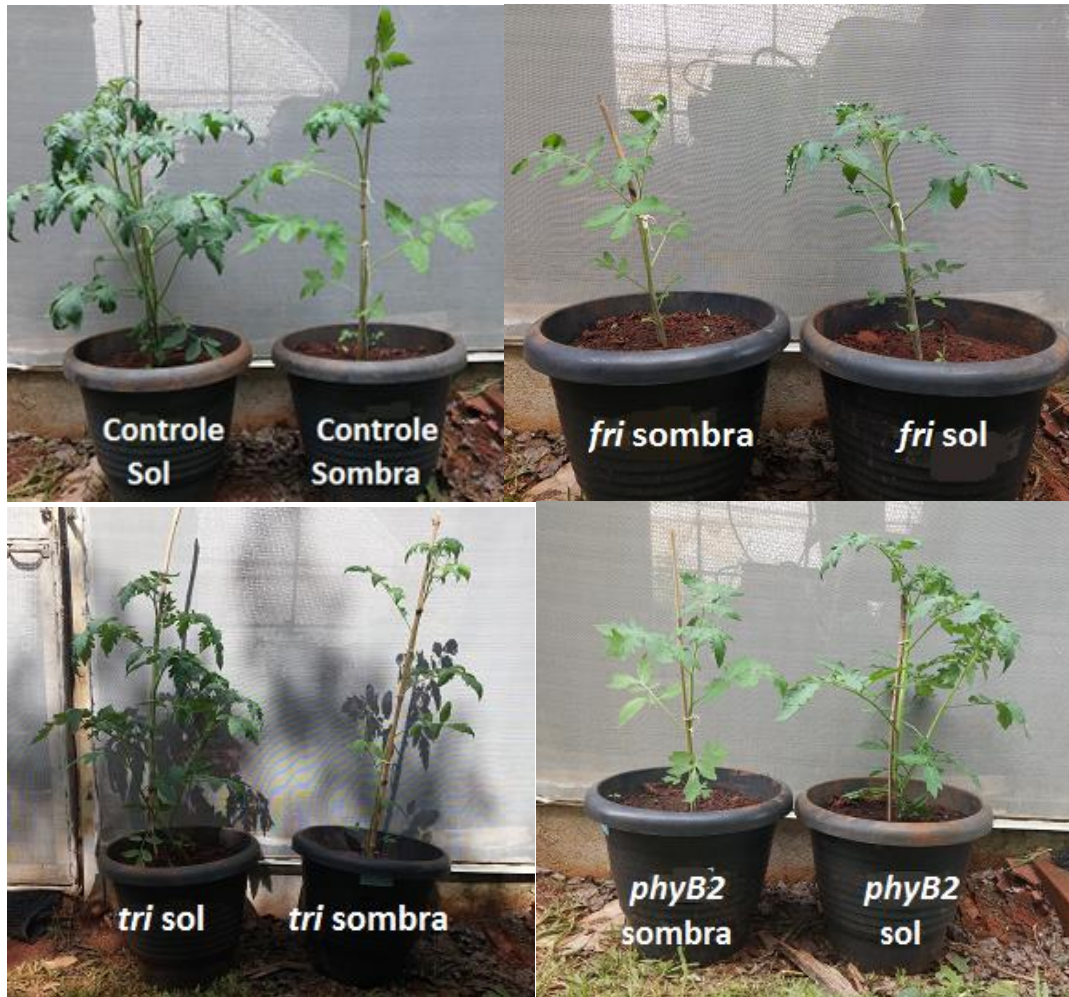


Figura 3: Aspectos fenotípicos do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri* e *phyB2*, 28 dias após o tratamento sol e sombra, evidenciando a menor altura dos mutantes *fri* em comparação aos demais genótipos.

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados relativos aos parâmetros morfométricos (45 DAE) explicou 74,7% da variância total (Figura 4). Os genótipos controle e *phyB2* cultivados em condições de sol, presentes no primeiro quadrante destacaram-se pela elevada massa seca das folhas em relação a massa seca total, área foliar, número de ramos laterais e largura da maior folha. A existência dos genótipos *phyB2*, controle e *tri* cultivados em sombreamento no segundo quadrante mostra a proeminência desses genótipos em relação à maior altura, comprimento do entrenó, comprimento e número de folhas. Representados no terceiro quadrante, os mutantes *fri* submetidos a condições de sol destacaram-se pela menor altura e os genótipos *fri* e *tri* cultivados a pleno sol se destacaram quanto a razão massa seca de raiz:massa seca total. O mutante *fri* em condições de sombra representado no quarto quadrante, destacou-se pela menor área foliar, número de ramos laterais, largura da maior

folha e massa seca das folhas, no entanto é o genótipo que se destaca quanto a maior razão massa seca de caule: massa seca total (Figura 4).

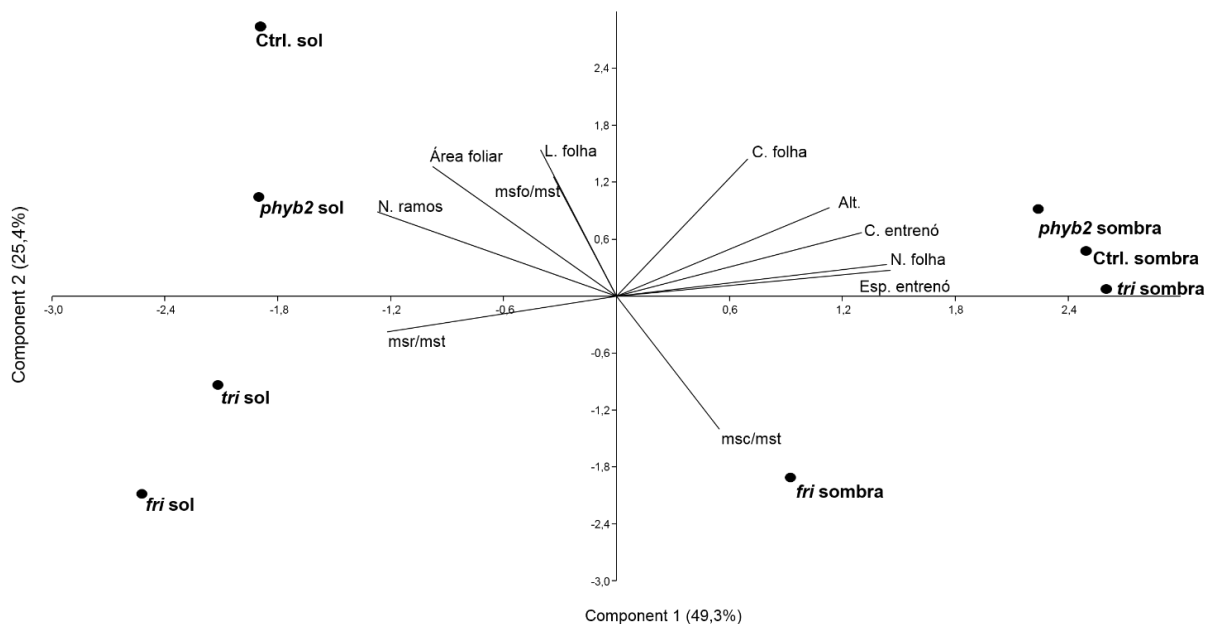


Figura 4: Biplot das variáveis altura (Alt.), comprimento (C. folha) e largura da maior folha (L. folha), número de folhas (N. folhas), comprimento do entrenó (C. entrenó) e espessura do entrenó (Esp. Entrenó), área foliar, massa seca da raiz em relação a massa seca total (msr/mst), massa seca do caule pela massa seca total (msc/mst), massa seca das folhas em relação a massa seca total (msf/mst) aos 45 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Os tratamentos sol/sombra, aos 45 DAE, influenciaram na altura de todos os genótipos, em que aqueles submetidos ao tratamento sombra exibiram maior altura comparativamente àqueles do tratamento sol (Figura 2 – material suplementar). Observou-se menor número de folhas, ramos laterais e menor espessura do entrenó em todos os genótipos cultivados sob sombreamento, ao passo que o comprimento do entrenó dos genótipos foi maior comparativamente àqueles do tratamento sol com exceção do mutante *phyB2* que não foi registrado diferenças deste parâmetro (Figura 2 – material suplementar). Os tratamentos influenciaram no comprimento e largura da maior folha do genótipo controle, que se apresentaram maiores em condições de sombra em relação condição de sol (Figura 2 – material suplementar).

Entre os genótipos cultivados em condições de sol, aos 45 DAE, observou-se menores valores de altura, número de folhas, ramos laterais e comprimento do entrenó para o mutante *fri* e

menores valores no comprimento da maior folha foram observados nos mutantes *fri* e *tri* comparativamente aos demais genótipos (Figura 2 – material suplementar). O mutante *phyB2* teve maior comprimento do entrenó e maior largura das folhas quando comparado aos demais genótipos cultivados ao sol. Quando submetidos ao tratamento sombra, registrou-se menor número de folhas, ramos laterais, comprimento e largura da maior folha nos mutantes *fri* e *tri* em relação aos demais genótipos. Contudo, nas mesmas condições observou-se menor altura no mutante *fri*, ao passo que mutante *tri*, apresentou-se mais alto e com o entrenó mais alongado que os demais genótipos (Figura 2 – material suplementar). O aspecto visual das plantas cultivadas em condições de sombra aos 45 DAE pode ser observado na Figura 5.

Os tratamentos sol/sombra, aos 45 DAE, influenciaram a área foliar de todos os genótipos, que exibiram maiores valores quando cultivados em condições de pleno sol em relação ao tratamento sombra (Figura 3 – material suplementar). Quando submetidos à condição de sol, aos 45 DAE, os mutantes *fri* e *tri* detiveram menor área foliar que os demais genótipos, indicando que as mutações presentes nesses mutantes influenciaram este parâmetro. Todos os mutantes obtiveram menor área foliar que o grupo controle quando cultivados em condições de sombra (Figura 3 – material suplementar).

Diferenças entre os tratamentos sol/sombra aos 45 DAE puderam ser observadas no parâmetro razão massa seca da raiz em relação a massa seca total em todos os genótipos, em que os maiores valores desse parâmetro foram observados quando submetidos à pleno sol em comparação àqueles cultivados sob sombreamento. Verificou-se que todos os mutantes, tanto na condição sol quanto de sombra tiveram maior razão massa seca de raiz/massa seca total em relação ao genótipo selvagem (Figura 4 – material suplementar).

Os tratamentos sol/sombra não influenciaram na razão da massa seca do caule em relação a massa seca total dos genótipos, exceto para o genótipo selvagem que foi registrado menor razão quando submetidos à pleno sol em relação à sombra, resposta também observada ao compará-lo aos mutantes cultivados na condição de sol. Em condições de sombra não foram observadas diferenças entre os genótipos neste parâmetro (Figura 4 – material suplementar).

Quanto à razão da massa seca das folhas/massa seca total, os mutantes *fri* e *tri* não apresentaram diferenças entre os tratamentos, contudo, observou-se que o genótipo selvagem exibiu maiores valores à pleno sol comparativamente àqueles submetidos ao sombreamento, e o mutante *phyB2* apresentou maior razão quando cultivados à sombra em relação ao tratamento sol. Em condições de sol, registrou-se maior razão massa seca das folhas/massa seca total do genótipo selvagem em relação aos mutantes, ao passo que o mutante *phyB2* apresentou menor razão quando

comparados aos demais genótipos, os quais não obtiveram diferenças deste parâmetro em condições de sombra (Figura 4 – material suplementar).



Figura 5 – Aspectos fenotípicos do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri* e *phyB2* 60 dias após o tratamento sombra, evidenciando a maior altura do mutante *tri* em comparação aos demais genótipos.

Diferenças entre os tratamentos sol/sombra quanto à partição de fotoassimilados não foram observadas no final da fase reprodutiva (130 DAE) pois nenhum genótipo submetido ao tratamento sombra frutificou. Aos 130 dias após tratamento, o mutante *fri* exibiu menor razão massa seca da raiz em relação a massa seca total comparativamente aos demais genótipos, ao passo que o genótipo *tri* apresentou resultados semelhantes ao genótipo selvagem. O mutante *phyB2* exibiu maior razão da massa seca do caule/massa seca total da planta e massa seca das folhas/massa seca total em relação aos demais genótipos, ao passo que o genótipo selvagem exibiu menor razão da massa seca das folhas em relação a massa seca total que todos os mutantes. Observou-se que os mutantes *fri* e *tri* exibiram menor razão da massa seca do fruto /massa seca total comparativamente aos demais genótipos, neste parâmetro o genótipo controle exibiu maiores valores que todos os mutantes (Figura 6).

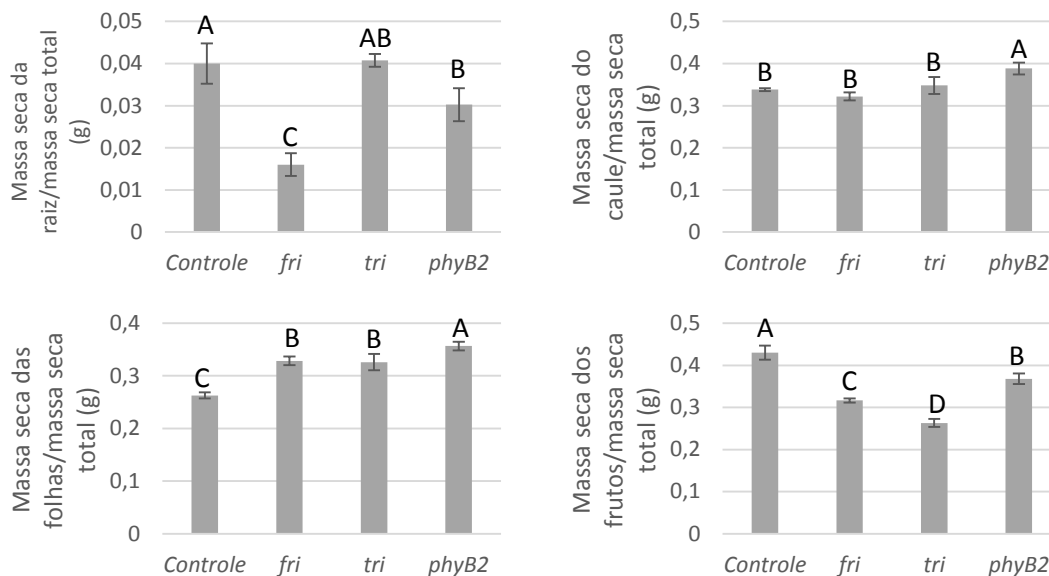


Figura 6: Partição de fotoassimilados entre os genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol, aos 130 DAE. As barras indicam desvio padrão. (n=4) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05)

Quanto ao tamanho dos frutos o mutante *fri* apresentou menor valor de largura e altura dos frutos comparativamente aos demais genótipos (Figura 7). O aspecto visual dos tomates das plantas pode ser observado na figura 8.

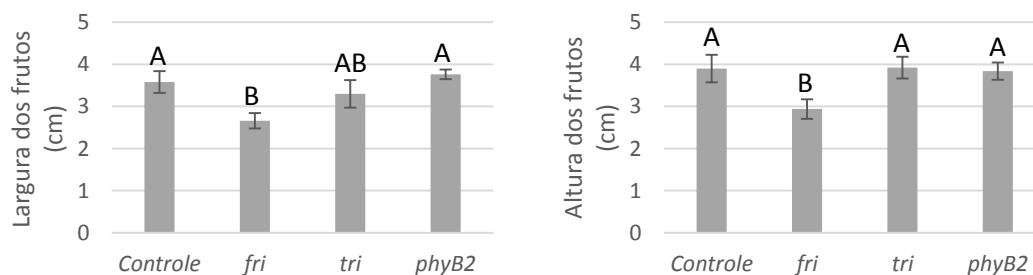


Figura 7: Análise do tamanho dos frutos entre os genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2*. As barras indicam desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). (n=5)



Figura 8: Comparação fenotípica dos tomates das plantas do grupo controle, *fri*, *tri*, *phyB2*, evidenciando o menor tamanho do tomate dos mutantes *fri* em comparação com os demais genótipos.

5.2 Análises fisiológicas

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados fisiológicos (28 DAE) explicaram 75,5% da variância total. Os genótipos controle e *fri* cultivados em sombreamento, presentes no primeiro quadrante, destacaram-se pela maior quantidade de chlA, chlB e carotenoides. Entretanto, os genótipos controle e *fri* cultivados em condições de sol caracterizaram-se pela maior taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração. Já os mutantes *tri* e *phyb2* cultivados em sombreamento destacaram-se pela baixa taxa fotossintética, condutância estomática, e transpiração. Os mutantes *tri* e *phyB2* sob sol exibiram alta razão clorofila *a* clorofila *b*, bem como reduzida quantidade de clorofilas *a*, *b* e carotenoides (Figura 9).

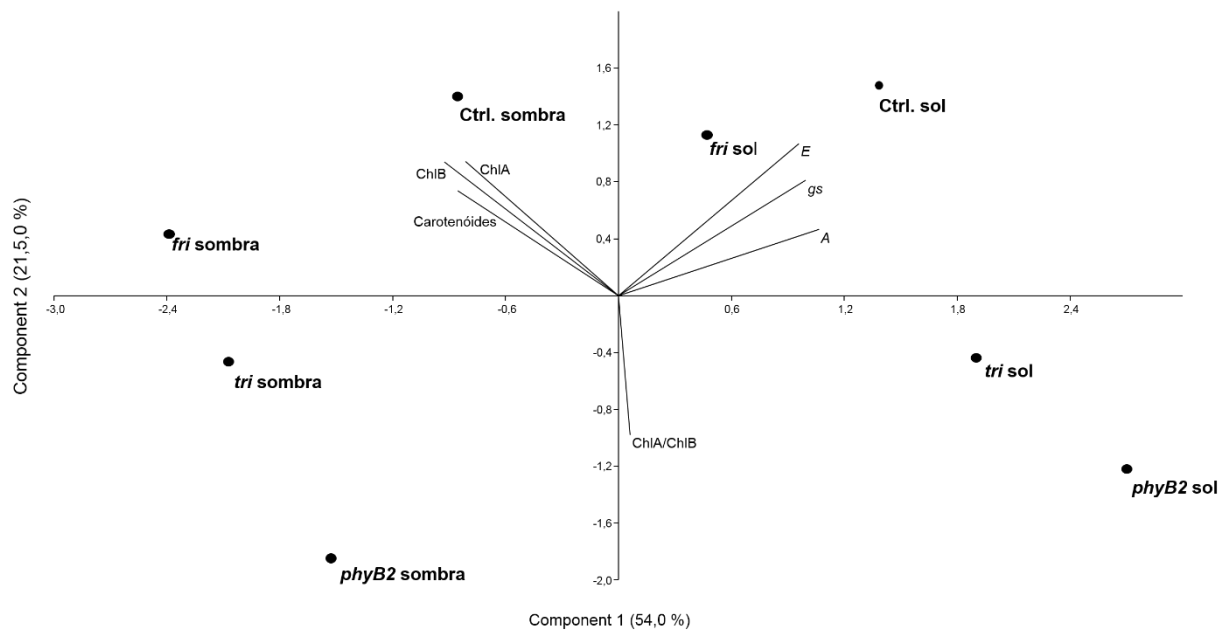


Figura 9: Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), quantidade de clorofila a (ChlA), clorofila b (ChlB), carotenóides, razão clorofila a : clorofila b (ChlA/ChlB) aos 28 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Observou-se, aos 28 DAE, maior taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração para todos os genótipos cultivados em condição de sol em relação àqueles submetidos ao sombreamento (Figura 5 – material suplementar). Em ambos os tratamentos, os genótipos não exibiram diferenças entre si quanto à taxa fotossintética. Quando submetidos à pleno sol, registrou-se menor transpiração para os mutantes *fri* e *tri* que os demais genótipos, e sob sombreamento essa característica foi observada nos mutantes *fri* e *phyB2*. Em condições de sombra, observou-se menores taxas de condutância estomática para todos os mutantes em relação ao genótipo controle, ao passo que à pleno sol as menores taxas foram observadas no mutante *phyB2* (Figura 5 – material suplementar).

Observou-se em todos os genótipos, aos 28 DAE, reduzida quantidade de clorofila b quando cultivados em condições de sol comparativamente àqueles do tratamento sombra. Registrou-se maior quantidade de clorofila a e carotenóides nos mutantes *fri* e *tri* quando submetidos ao tratamento sombra em relação ao sol. A razão clorofila $a:b$ foi maior no genótipo selvagem cultivado em condições de sol comparativamente à sombra, ao passo o mutante *tri* exibiu

maiores valores quando cultivados em sombra em relação àqueles do tratamento sol, enquanto nos demais genótipos não foi observado diferenças neste parâmetro (Figura 6 – material suplementar).

Quando cultivados em condições de sol, aos 28 DAE, observou-se menor quantidade de clorofila *a* e carotenoides no mutante *tri* em relação aos demais genótipos, resposta também observada para o mutante *tri* e *phyB2* quanto à clorofila *b*, ao passo que não se observou diferenças na razão clorofila *a*: clorofila *b* entre os genótipos. Quando submetidos à sombra o mutante *phyB2* exibiu menor valor de clorofila *a* em relação aos demais genótipos e todos os mutantes apresentaram maior quantidade de carotenoides que o genótipo selvagem. O mutante *tri* apresentou maior razão clorofila *a*:*b* em condições de sombra comparativamente aos demais genótipos, e todos os mutantes exibiram maiores valores deste parâmetro em relação ao grupo controle (Figura 6 – material suplementar).

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados relativos à fisiologia (37 DAE) explicitou 70,1% da variância total. Os genótipos controle e *tri* cultivados em condições de sombra destacaram-se em relação aos demais pela alta quantidade de clorofila *b* e razão clorofila *a*/*b*. Os mutantes *tri* submetidos à condição de sol presentes no segundo quadrante, foram caracterizados pela elevada taxa de fotossíntese líquida, condutância estomática e razão F_v/F_m . O mutante *fri* cultivado em condições de sombra, foi representado no terceiro quadrante, diferenciando-se pela maior fluorescência inicial (F_0), quantidade de carotenoides e clorofila *a*. Os mutantes *fri*, *phyB2* e o genótipo controle submetidos a condição de sol, e o mutante *phyB2* cultivado em ambiente sombreado, presentes no quarto quadrante destacaram-se pela transpiração (Figura 10).

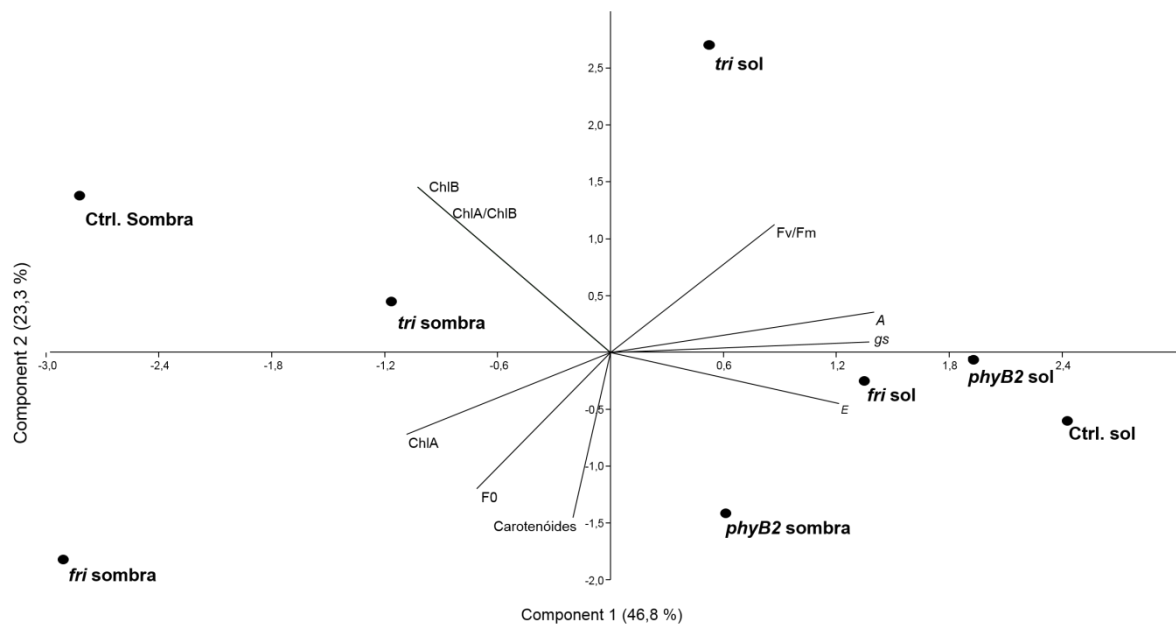


Figura 10 : Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), quantidade de clorofila a (ChlA), clorofila b (ChlB), carotenóides, razão clorofila a clorofila b (ChlA/ChlB), fluorescência inicial (F_0) e rendimento quântico potencial (F_v/F_m) aos 37 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Aos 37 DAE não foram registradas diferenças de fluorescência inicial (F_0) e rendimento quântico potencial do fotossistema II entre os genótipos e tratamentos, com exceção do mutante *fri* que apresentou menor F_0 e maior F_v/F_m quando cultivado em condições de sol, comparativamente às plantas submetidas ao sombreamento (Figura 7 – material suplementar)

Os tratamentos sol/sombra, aos 37 DAE, influenciaram a taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática de todos os genótipos, que exibiram maiores valores quando submetidos à pleno sol, com exceção para o mutante *phyB2* que apresentou maior transpiração quando cultivados sob sombreamento e para o mutante *tri* que não exibiu diferenças de transpiração entre os tratamentos. Não foram observadas diferenças na taxa fotossintética dos genótipos cultivados em condições de sol, contudo, a taxa de condutância estomática e transpiração foi menor em todos os mutantes em relação ao genótipo selvagem nessas condições. Quando cultivados em condições de sombra, registrou-se para o mutante *phyB2* maior taxa fotossintética e transpiração que os demais genótipos. Submetidos ao tratamento sol, a condutância estomática foi menor nos mutantes *fri* e *tri* em relação aos demais genótipos, ao passo que em condições de sombra o mutante *tri* apresentou maior condutância estomática e o mutante *fri* menores valores desse parâmetro em relação aos demais genótipos (Figura 8 – material suplementar).

Aos 37 DAE, registrou-se maior concentração de clorofila *a* para o mutante *tri* e genótipo selvagem quando cultivados em condições de sombra em relação ao tratamento sol, ao passo que não foi observado diferenças estatísticas para os mutantes *fri* e *phyB2*. Entre os genótipos cultivados a pleno sol, o mutante *fri* deteve maior concentração de clorofila *a* comparativamente aos demais genótipos, ao passo que o mutante *tri*, deteve menor quantidade (Figura 9 – material suplementar).

Aos 37 DAE, não foram observadas diferenças de clorofila *b* entre os tratamentos, à exceção do genótipo selvagem que exibiu maior quantidade de clorofila *b* quando submetido ao tratamento sombra em relação àqueles cultivados à pleno sol. Entre os genótipos cultivados em condições de sol, observou-se maior quantidade de clorofila *b* no mutante *tri* comparativamente aos demais genótipos, ao passo que o mutante *phyB2* apresentou menor quantidade. Entre aqueles submetidos ao sombreamento, foi observado menor quantidade de clorofila *b* para o mutante *phyB2* em relação aos demais genótipos, e o genótipo controle maior quantidade que todos os mutantes (Figura 9 – material suplementar).

Aos 37 DAE, observou-se maior razão clorofila *a*:*b* para o genótipo selvagem e o mutante *phyB2* quando cultivados à pleno sol em relação ao sombreamento, ao passo que o mutante *tri* apresentou maior razão clorofila *a*:*b* quando cultivados em condições de sombra. Entre os genótipos cultivados em condições de sol o mutante *tri* respondeu com queda significativa na razão clorofila *a*: clorofila *b* em relação aos demais genótipos. Registrou-se menor razão clorofila *a*:*b* para o genótipo selvagem em sombreamento comparativamente aos mutantes. (Figura 9 – material suplementar).

Quando cultivados à pleno sol o mutante *tri* deteve menor quantidade de carotenoides que os demais genótipos, aos 37 DAE, ao passo que sob sombreamento esse resultado foi observado para o mutante *fri* e genótipo controle. Diferenças entre os tratamentos foram observadas para o mutante *tri* e *phyB2* que apresentaram maior quantidade de carotenoides em condições de sombra em relação àqueles cultivados ao sol (Figura 9 – material suplementar).

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados relativos à fisiologia em 55 DAE explicou 91% da variância total. Os mutantes *phyB2* e *fri* cultivados em condições de sombra presentes no primeiro quadrante, destacaram-se pela elevada condutância estomática. O mutante *tri* em ambos os tratamentos deteve maior fluorescência inicial (F_0) e estão representados no terceiro quadrante. Os genótipos controle em ambos os tratamentos e o mutante *phyB2* cultivado em condições de sol, presentes no quarto quadrante, destacaram-se pela maior taxa de transpiração (*E*), fotossíntese (*A*) e rendimento quântico efetivo (Fq'/Fm') (Figura 11).

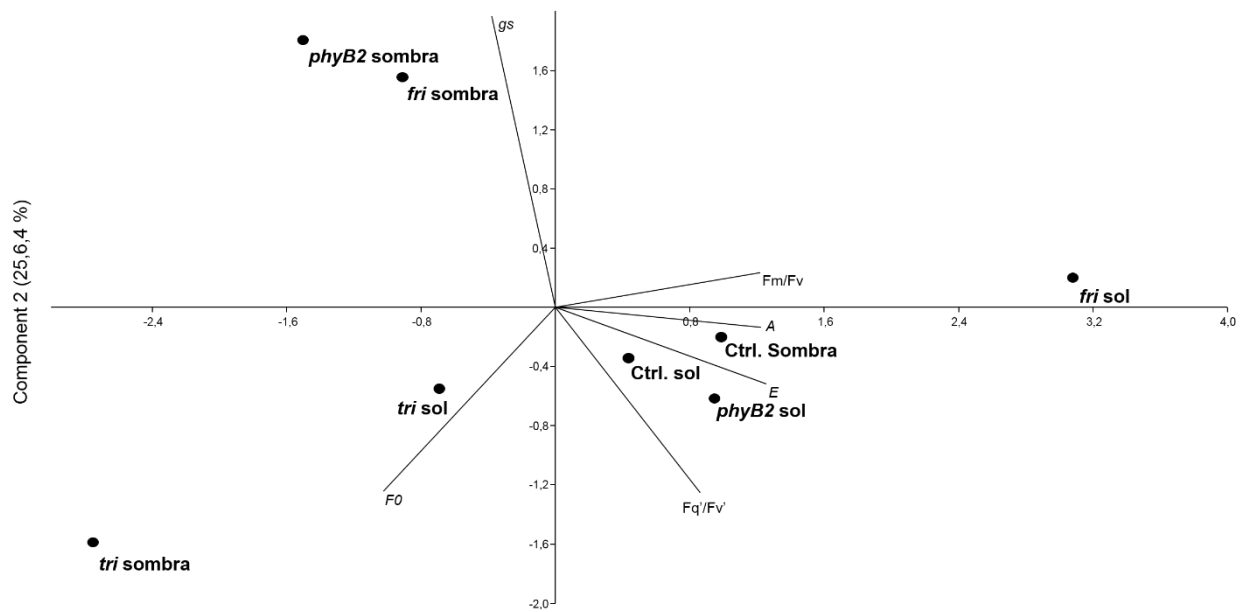


Figura 11: Biplot das variáveis de taxa de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fluorescência inicial (F_0) e rendimento quântico potencial (F_v/F_m) e rendimento quântico efetivo (F_q'/F_v') aos 55 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Registrou-se, aos 55 DAE, maior F_0 para os mutantes *fri* e *tri* quando cultivados em condições de sombra comparativamente com aqueles submetidos ao tratamento sol, ao passo que não foi observado diferenças para os demais genótipos. Entre os genótipos do tratamento sombra, o mutante *tri* deteve maior F_0 que os demais genótipos, ao passo que as plantas do grupo controle exibiu menor valor desse parâmetro que todos os mutantes. Observou-se maior F_0 para os mutantes *phyB2* cultivados em condições de sol comparativamente aos mutantes *fri* e *tri*. Não foi registrada diferenças de rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) entre os genótipos e tratamentos, exceto para o mutante *fri*, que foi observado menor F_v/F_m quando cultivado em condições de sombreamento comparativamente àqueles do tratamento sol (Figura 10 – material suplementar)

Quanto ao rendimento quântico efetivo do fotossistema II (F_q'/F_v'), aos 55 DAE, não foram registradas diferenças entre os genótipos submetidos ao tratamento sol, ao passo que no tratamento sombra o mutante *tri* respondeu com queda significativa do F_q'/F_v' comparativamente aos demais genótipos. Entre os tratamentos, observou-se menor rendimento quântico efetivo do fotossistema II para os mutantes *fri* e *tri* submetidos a sombra em relação às plantas cultivadas ao

sol. Os demais genótipos não apresentaram diferenças entre os tratamentos sol e sombra (Figura 10 – material suplementar).

A taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática dos mutantes *fri*, *tri*, *phyB2* foram maiores quando cultivados à pleno sol comparativamente aos mutantes submetidos ao sombreamento aos 55 DAE. Contudo, essas diferenças não foram observadas para o genótipo selvagem. Observou-se maiores valores de taxa fotossintética, condutância estomática para o mutante *fri* cultivado em condições de sol quando comparado aos demais genótipos, ao passo que para o mutante *tri* foi observado menor taxa fotossintética e transpiração. Em condições de sombra, registrou-se menores valores de transpiração e condutância estomática para os mutantes *fri*, *tri* e *phyB2* em relação ao genótipo controle, e a menor taxa fotossintética foi observada para o mutante *tri* comparativamente aos demais genótipos (Figura 11 – material suplementar)

5.3 Análises anatômicas

O primeiro e segundo componente do biplot referente à análise de componentes principais dos dados anatômicos (37 DAE) explicitou 69,9% da variância total. O mutante *tri* submetido à condições de sol, presente no segundo quadrante, destacou-se pela elevada altura do xilema caulinar, área do elemento de vaso caulinar, altura das células da epiderme abaxial e adaxial, parênquima paliçádico e esponjoso, contrário ao observado para os genótipos controle e *fri* cultivados em sombreamento. Os mutantes *fri* e *phyB2* submetidos a condições de sol, presentes no quarto quadrante, foram caracterizados pelo elevado índice estomático e densidade estomática, diferente do observado para os mutantes *tri* e *phyB2* cultivados em condições de sombra presentes no primeiro quadrante (Figura 12).

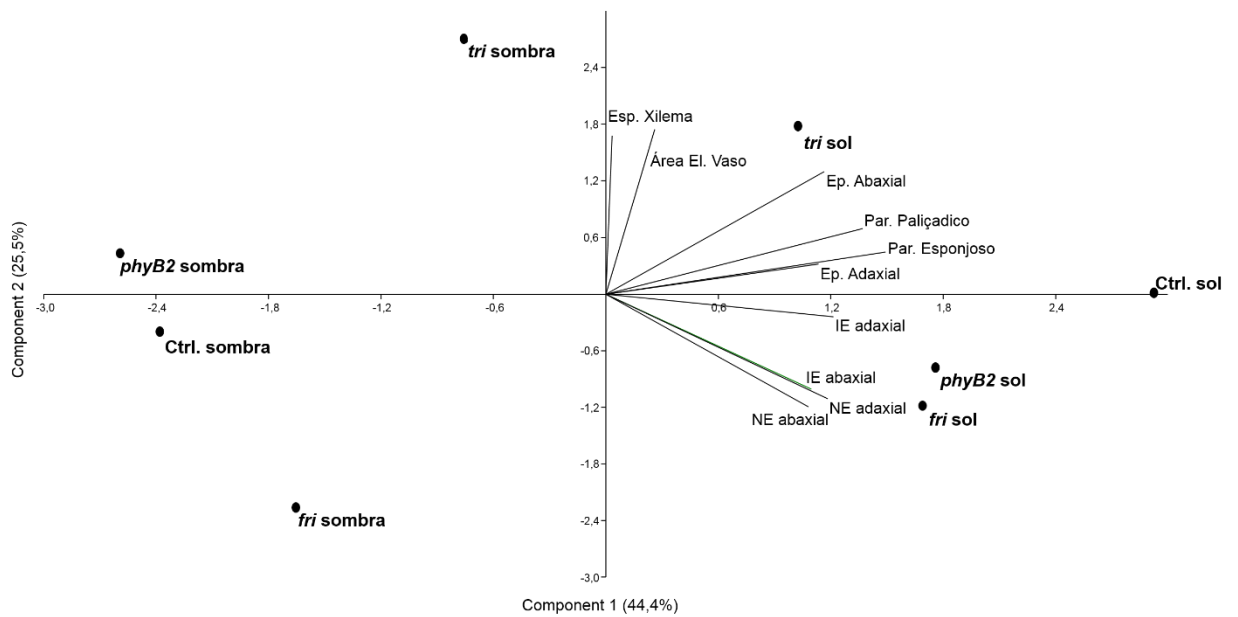


Figura 12: Biplot das variáveis de índice estomático (IE abaxial e IE adaxial), densidade estomática (NE abaxial e NE adaxial), altura do parênquima paliçádico (Par. Paliçadico) e esponjoso (Par. Esponjoso), células epidérmicas (Ep. Abaxial e E. Adaxial), altura do xilema de folha (Esp. Xilema) e área do elemento do caule (Área El. Vaso) aos 37 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* cultivados em condições de sol e sombra em relação aos componentes principais 1 e 2.

Aos 37 DAE, observou-se menor área do elemento de vaso do caule para os mutantes *fri* cultivados em condições de sol em relação aos demais genótipos do mesmo tratamento (Figura 12 – material suplementar). Em condições de sombra os menores valores deste parâmetro também foram observados para o mutante *fri* comparativamente aos demais genótipos (Figura 12 – material suplementar). Registrou-se maior área do elemento de vaso para os genótipos controle e *fri* cultivados em condições de sol em relação à sombra, ao passo que para o mutante *phyB2*, os maiores valores deste parâmetro foram observados para aqueles cultivados em condições de sombra em relação ao tratamento sol (Figura 12 – material suplementar).

Aos 37 DAE, em condições de sol, registrou-se maior altura do xilema do caule para o genótipo controle em relação aos mutantes que não se diferenciaram, ao passo que em condições de sombra a menor altura do xilema foi observada para o mutante *fri* e genótipo controle em relação aos demais genótipo. Todos os genótipos obtiveram maior altura do xilema submetidos a condições de sol comparativamente ao tratamento sombra. Diferenças entre os tratamentos foram observadas para os genótipos controle e *fri*, que obtiveram maior área do elemento de vaso quando

em condições de sol, ao passo que para o mutante *phyB2* foi verificado maiores valores deste parâmetro quando em condições de sombra. O mutante *tri* não obteve diferenças desta variável entre os tratamentos (figura 12 – material suplementar). Em condições de sol não foram observadas diferenças na área do elemento de vaso para os genótipos, exceto para o mutante *fri*, que obteve menores valores deste parâmetro em relação aos demais genótipos. Em condições de sombreamento a maior área do elemento de vaso foi observada para os mutantes *tri* e *phyB2* em relação ao genótipo controle, e o menores valores deste parâmetro foram observados para o mutante *fri* (Figura 12 – material suplementar).

Não foram observadas diferenças na altura de células epidérmicas da face abaxial para os genótipos e tratamentos, contudo, na face adaxial observou-se maiores valores deste parâmetro para o mutante *tri* em ambos os tratamentos comparativamente aos demais genótipos aos 37 DAE. Registrou-se maior altura de células epidérmicas da face adaxial para todos os genótipos em condição de sol em relação à sombra (Figura 12 – material suplementar).

Verificou-se maior altura do parênquima paliçádico para os todos os genótipos submetidos a condição de sol comparativamente à sombra, ao passo que não foram observadas diferenças entre os genótipos em ambos os tratamentos aos 37 DAE (Figura 12 – material suplementar).

Aos 37 DAE Na condição de sol, não foram registradas diferenças na altura do parênquima esponjoso para os genótipos, entretanto, na condição de sombra os maiores valores deste parâmetro foram observados para o mutante *tri* comparativamente aos demais genótipos. Verificou-se maior altura do parênquima esponjoso para todos os genótipos na condição de sol em relação à sombra, exceto para o mutante *tri* que não foi observado diferenças estatísticas desta variável (Figura 12 – material suplementar).

O índice estomático da face abaxial, aos 37 DAE, foi menor no mutante *tri* cultivado em condição de sol comparativamente aos demais genótipos, ao passo que na condição de sombra não foi observado diferenças entre os genótipos em relação a este parâmetro. Todos os genótipos apresentaram maior índice estomático da face abaxial na condição de sol em relação ao tratamento sombra, à exceção do mutante *tri*, no qual se registrou maiores valores desta variável na condição de sombra em relação ao sol. Em condições de sol, o índice estomático da face adaxial foi maior no genótipo controle em relação aos mutantes, ao passo que na condição de sombra não foram observadas diferenças deste parâmetro entre os genótipos. Todos os genótipos apresentaram maior

índice estomático da face adaxial na condição de sol em relação à sombra, exceto o mutante *fri* que não exibiu diferenças deste parâmetro entre os tratamentos (Figura 12 – material suplementar).

Aos 37 DAE, observou-se maior densidade estomática da face abaxial para os mutantes *fri* e *phyB2* na condição de sol comparativamente aos demais genótipos, ao passo que nas mesmas condições, menores valores deste parâmetro foram observados para o mutante *tri*. Na condição de sombra, não foram observadas diferenças da densidade estomática entre os genótipos. Entre os tratamentos, verificou-se maior densidade estomática da face abaxial para o genótipo controle e para os mutantes *fri* e *phyB2* na condição de sol comparativamente à sombra, ao passo que o mutante *tri* não deteve diferença deste parâmetro entre os tratamentos (Figura 12 – material suplementar). Não foram verificadas diferenças na densidade estomática da face adaxial entre os genótipos em ambos os tratamentos. Registrou-se maiores valores deste parâmetro para todos os genótipos cultivados em condição de sol em relação à sombra, exceto para o mutante *fri* que não apresentou diferenças desta variável entre os tratamentos (Figura 12 – material suplementar).

O objetivo dos parâmetros de quantificação de aspectos anatômicos era verificar se havia diferença entre a fase vegetativa e a reprodutiva, devido a possível remobilização de fotoassimilados para o enchimento dos frutos. Contudo as plantas sombreadas não frutificaram, conseqüentemente, não houve motivo para nova avaliação anatômica das plantas sombreadas aos 55 DAE, sendo realizada, portanto, avaliação apenas das plantas cultivadas a pleno sol, as quais frutificaram.

Aos 55 DAE não foram observadas diferenças estatísticas na altura do xilema para os genótipos cultivados em condições de sol (Figura 13), no entanto houve um decréscimo relativo dessa altura em relação aos 37 DAE, visto que era mais alto que os demais genótipos (Figura 12). Aos 55 DAE, a maior altura do elemento de vaso foi observada para o mutante *tri*, ao passo que os menores valores deste parâmetro foram observados para o mutante *fri* em relação aos demais genótipos (Figura 13), comportamento de *fri* semelhante ao observado aos 37 DAE (Figura 12). A fotomicrografia do elemento de vaso caulinar aos 55 DAE pode ser observado na figura 14.

Aos 55 DAE, a altura das células epidérmicas da face abaxial e adaxial foi maior para o genótipo controle comparativamente aos mutantes, menores valores deste parâmetro na face abaxial foram observados para o mutante *phyB2*, e na face adaxial para os mutantes *fri* e *phyB2* em relação aos demais genótipos (Figura 13).

A altura do parênquima paliçádico foi menor para os mutantes *fri* e *phyB2* comparativamente aos demais genótipos. Observou-se maior altura do parênquima esponjoso para

os mutantes *tri* e *phyB2* em comparação aos demais genótipos, ao passo que os menores valores deste parâmetro foram verificados para o mutante *fri* (Figura 13).

Aos 55 DAE não foram registradas diferenças no índice e densidade estomática da face abaxial entre os genótipos, contudo, foi observado maior índice estomático da face adaxial para o genótipo controle em relação aos mutantes, e os menores valores desta variável foram observados para os mutantes *fri* e *phyB2* comparativamente aos demais genótipos. A densidade estomática da face adaxial foi maior para o genótipo controle em comparação aos mutantes, ao passo que os menores valores deste parâmetro foram observados para o mutante *fri* (Figura 13).

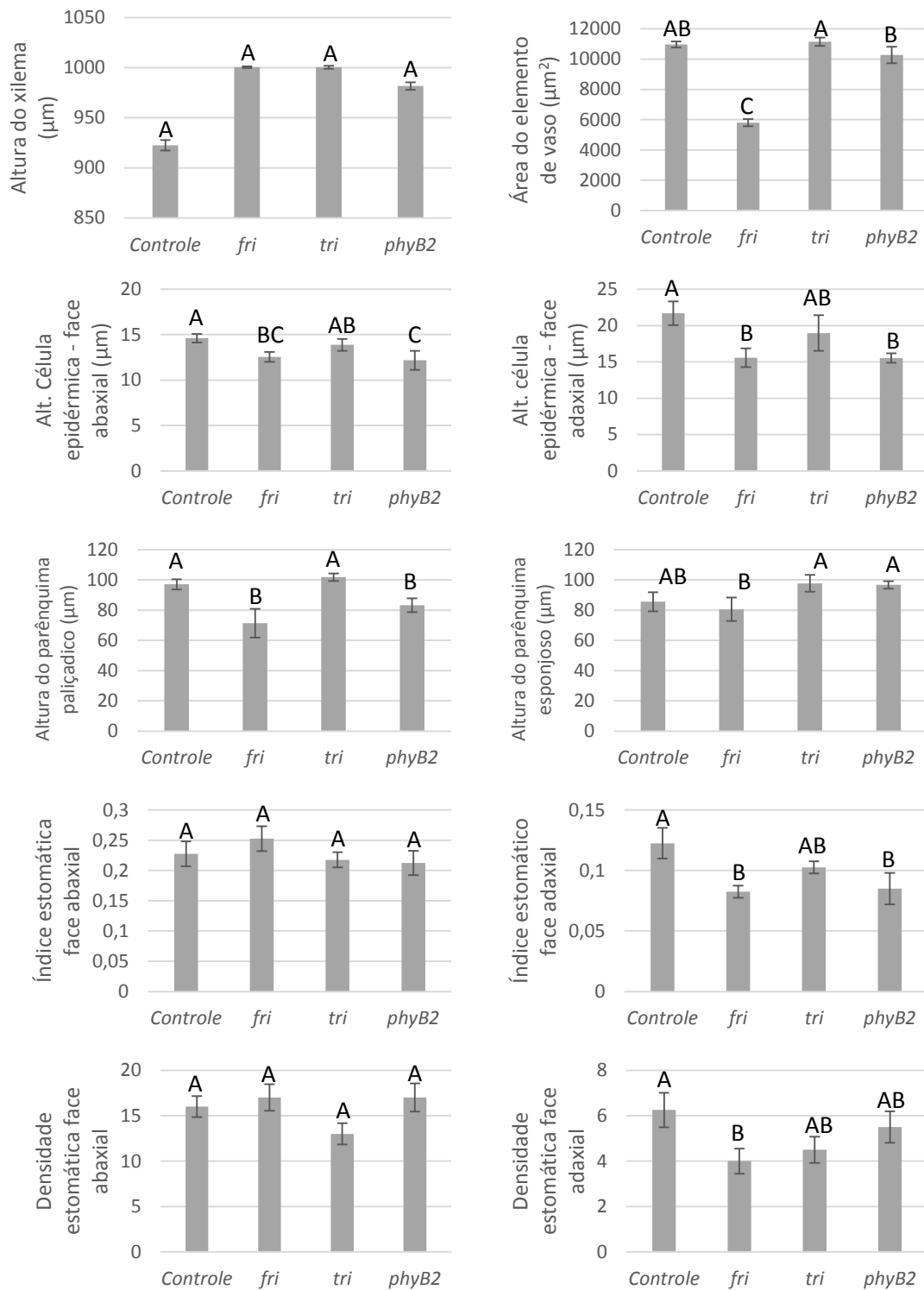


Figura 13: Área do elemento de vaso (μm^2), altura do xilema caulinar (μm); altura das células epidérmicas – face abaxial (μm); altura das células epidérmicas – face adaxial (μm); altura do parênquima paliçádico (μm); altura do parênquima esponjoso (μm); índice estomático – face abaxial; índice estomático – face adaxial; densidade estomática – face abaxial aos 55 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* submetidos ao tratamento sol. As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

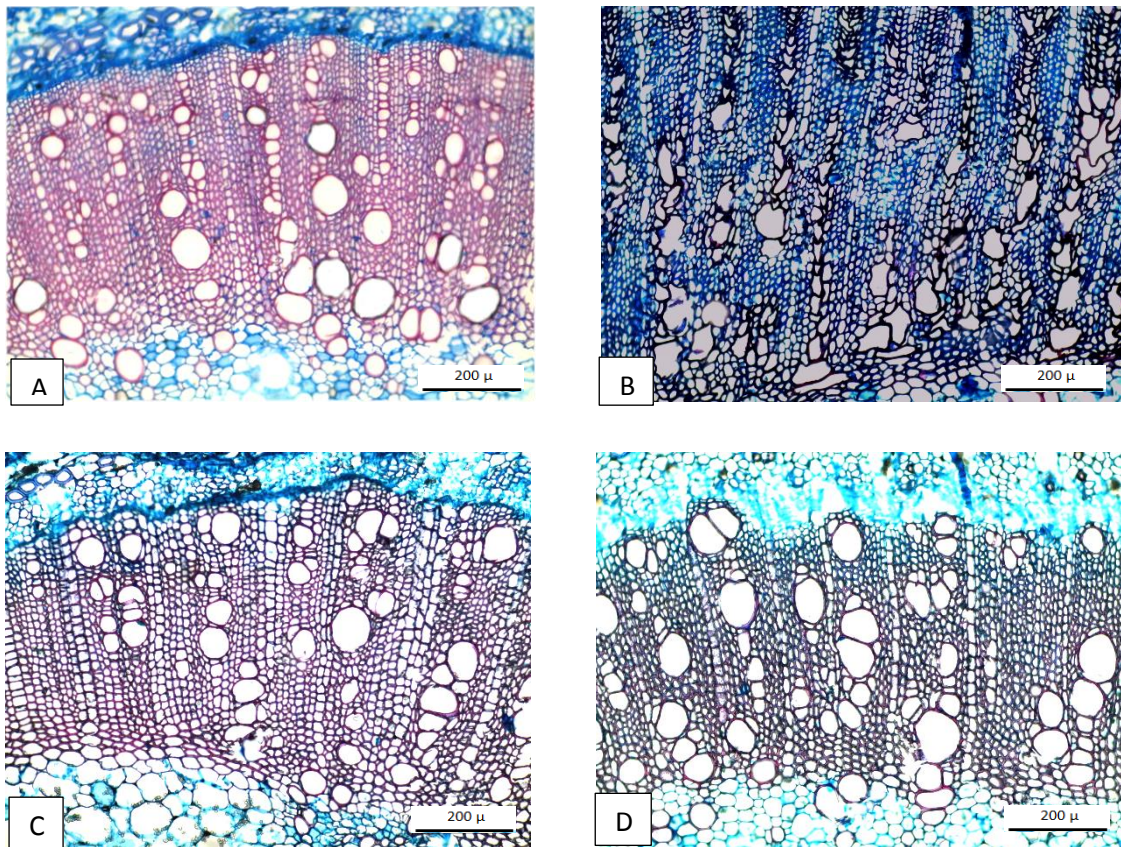


Figura 14: Fotomicrografia destacando a menor área do elemento de vaso caulinar do mutante *fri* (B) em comparação com os demais genótipos, aos 55 DAE

5.4 Aspectos não quantitativos

Durante todo o período experimental e em ambos os tratamentos, os mutantes *fri* exibiram forte murcha nas horas mais quentes do dia em relação aos demais genótipos, contudo, nas horas mais frescas, na condição de sol, exibia um aspecto mais vigoroso quando comparado aos demais genótipos.

Os tratamentos sol/sombra influenciaram o aparecimento do botão floral que surgiu primeiro nos genótipos cultivados em condições de sol, aos 31 DAE, e os genótipos submetidos à sombra, aos 37 DAE, embora os frutos não tenham se desenvolvido à sombra. Em ambos os tratamentos o aparecimento do botão floral do mutante *fri* foi mais tardio que os demais genótipos,

O aparecimento do fruto foi observado primeiramente no mutante *phyB2* e genótipo controle aos 46 DAE e por último no mutante *fri* aos 51 DAE. Os frutos dos mutantes *fri*

apresentaram sementes de tamanhos reduzidos e menos abundante, comparativamente aos demais genótipos.

6 DISCUSSÃO

Segundo Benincasa *et al.* (1988) a área foliar total de uma planta é resultante da ação mútua de dois componentes foliares, representados pela área das folhas e número de folhas, os quais encontram-se intimamente interligados. Sendo assim, a maior área foliar dos genótipos cultivados na condição de sol, está relacionada com o maior número de folhas presentes nos mesmos. Outro fator que influenciou o menor número de folhas e conseqüentemente uma menor área foliar é o número muito reduzido de ramos nas plantas sombreadas comparado àquelas cultivadas na condição de sol.

Sabe-se que o tamanho do limbo foliar e a arquitetura das folhas podem influenciar as respostas às diferentes condições de luminosidade. É esperado que folhas sombreadas se expandam mais que folhas expostas ao sol na tentativa de aumentar a área de captação da luz (Valladares & Niinemets, 2008), tal qual observado neste trabalho aos 45 DAE, em que plantas do genótipo selvagem tiveram folhas maiores, tanto em comprimento quanto em largura, quando cultivadas à sombra. Entre os genótipos também foram observadas diferenças no tamanho das folhas e área foliar. Os mutantes *fri* e *tri* em ambos os tratamentos exibiram folhas com menor comprimento comparativamente aos demais genótipos, assim como folhas mais estreitas na condição de sombra e com área foliar menor na condição de sol, e todos os mutantes tiveram área foliar menor que o genótipo selvagem na condição de sombra o que corrobora com outros estudos prévios realizados com outras plantas mutantes em *phyA* e *phyB*. Em ervilha também foi observado que a deficiência em *phyA* promovia redução na área foliar (Weller *et al.*, 2001), tal qual observado para o mutante *fri* neste trabalho. Em arroz, os mutantes *phyB1* e *phyB2* tiveram redução da área foliar, visto que a mutação promoveu aumento na expressão de inibidores de ciclinas cinase-dependentes, as quais são necessárias à divisão celular nas folhas em formação (Liu *et al.*, 2012). Neste mesmo estudo, algumas ciclinas somente foram inibidas em mutantes *phyB1*. Embora esta análise não tenha sido realizada neste trabalho em tomateiro, percebe-se que o mutante *phyB2* não teve redução de área foliar na condição de sol, equiparando-se ao genótipo selvagem. No entanto, houve redução da área foliar na condição de sombra, o que sugere que a influência deste fitocromo específico sobre a área foliar depende da condição de radiação incidente.

Todos os genótipos submetidos ao tratamento sombra, apresentaram-se maiores, com menos ramificações, florescimento tardio e ausência de frutificação comparativamente àqueles do tratamento sol. Estas respostas corroboram com dados obtidos por Kerckhoffs *et al.*, (1997) e ocorre em virtude do sombreamento promover a diminuição da razão F_{VE}/F_V , dado que na condição de sombra é reduzido não somente a intensidade da radiação, mas também o balanço de radiação V:VE (Schettini, 2011), que por sua vez, modulam o balanço de F_{VE}/F_V , especialmente dos fitocromos do tipo II.

Tal qual observado neste trabalho, em que o mutante *tri* cultivado à sombra teve maior altura em relação aos demais genótipos, Kerckhoffs *et al.*, (1997) observou que em condições de altas proporções de VE, condição favorecida pela sombra, os mutantes *tri* são consideravelmente maiores que os exemplares selvagens, indicando que phyB1 está relacionado com a regulação do alongamento em plantas de tomateiro. O fitocromo tem um papel central na regulação do alongamento caulinar, uma vez que o isômero F_{VE} , especialmente do phyB, desencadeia mecanismos de destruição ou inativação de fatores de interação de fitocromos (PIFs) que atuam como fatores positivos de transcrição gênica relacionados ao alongamento celular. Desta forma a deficiência em phyB poderia dificultar o refreamento do alongamento caulinar. Este efeito foi observado somente na condição de sombra para o mutante *tri*, comparativamente aos demais genótipos, o que evidencia a dependência da condição de radiação para o phyB1 regular o processo. Se o efeito dependesse apenas do genótipo em questão seria esperado um maior alongamento do caule do mutante *tri* também na condição de pleno sol, e sua não ocorrência pode estar relacionada tanto a presença de phyA, que em tomateiro também regula ação dos PIFs (Castillon *et al.*, 2007), quanto a do próprio phyB2 presente no mutante *tri*, os quais podem ter ação regulatória diferenciada na condição sol/sombra. Os PIFs representam uma família de fatores de transcrição tipo *basic helix-loop-helix* (bHLH) que regulam a fotomorfogênese (Shin *et al.*, 2013). Localizados no núcleo das células vegetais, eles se ligam diretamente aos fitocromos ativados e têm a capacidade de controlar diretamente ou indiretamente a expressão de genes regulados pela luz (Castillon *et al.*, 2007). Huq & Quail (2002) observaram nos mutantes deficientes em phyB que expressão dos genes noturnos dependiam da ação dos PIFs 3 e 4, induzindo um maior alongamento caulinar, mas também há indícios dos PIFs 1 e 5 regulando alongamento caulinar. Em plantas cultivadas no escuro, proteínas PIFs se acumulam no núcleo promovendo um fenótipo estiolado, ao passo que quando expostas à luz, fitocromos ativos são translocados para o núcleo induzindo um rápido declínio na abundância de PIF1, PIF3, PIF4, e PIF5, inibindo o alongamento caulinar (Leivar & Monte, 2014).

A expressiva murcha observada somente no mutante *fri* em dias quentes, quando comparado aos demais genótipos, sugere o papel do *phyA* como agente modulador de mecanismos de suprimento de água em função da demanda evaporativa. Neste trabalho percebeu-se que a área do elemento de vaso caulinar tanto na condição de sol quanto na condição de sombra, aos 37 DAE e 55 DAE, era menor que nos demais genótipos, evidenciando, portanto, um mecanismo pelo qual o *phyA* modula o suprimento de água. Estas observações corroboram com estudo prévio em tomateiro, no qual o mutante *fri* rapidamente murchava sob alta demanda evaporativa devido um menor número e diâmetro de elementos traqueais, associado a uma reduzida condutância estomática e transpiração (Auge *et al.*, 2012; Van Tuinen *et al.*, 1995a). Fatores que dificultam o suprimento de água às folhas podem dificultar o mecanismo de refrigeração foliar através da transpiração assim como observado neste trabalho, em que *fri* teve menor taxa de transpiração aos 28 DAE comparativamente ao genótipo controle e ao mutante *tri*, quando cultivados à sombra, e nas condições de sol, aos 28 DAE e 45 DAE comparativamente ao genótipo controle e ao mutante *phyB2*. Carlquist (1985) reporta que vasos de grande calibre se comparados a vasos de menor calibre possibilitam maior fluxo de água, visto que a taxa de condução é diretamente proporcional à quarta potência do raio do elemento condutor.

O florescimento tardio observado no mutante *fri* neste trabalho é consequência da ação do *phyA* participando da regulação do ritmo circadiano, e portanto, da percepção do comprimento do dia. Este evento já é conhecido na literatura (Reed *et al.*, 1994), e a observação realizada neste estudo corrobora com estudos prévios em que *Arabidopsis* mutantes deficientes em *phyA* tem o florescimento atrasado enquanto que mutantes em *phyB* tem florescimento antecipado. Neste trabalho, a deficiência em *phyB1* ou *phyB2*, isoladamente, no entanto, não promoveu alteração no tempo de floração em relação ao genótipo selvagem de tomateiro. Tanto o *phyA* quanto o *phyB* estão envolvidos na regulação de genes importantes na floração, como o *CONSTANS (CO)* e *FLOWERING LOCUS T (FT)*, relacionados respectivamente com componentes de regulação do relógio circadiano e com a produção substâncias hormonais de regulação floral (Song *et al.*, 2015), ou seja, os fitocromos estão envolvidos tanto na regulação floral a partir de fatores do ambiente quanto endógenos.

Além da floração, percebeu-se influência do *phyA* na regulação do desenvolvimento dos frutos, já que o mutante *fri* teve frutos com tamanhos reduzidos comparativamente aos demais genótipos e com menor quantidade de sementes, aspectos também observados por Alba *et al.* (1999) para o mesmo mutante.

Ao final da fase reprodutiva, o mutante *fri* exibia fenótipo mais vigoroso e robusto que os demais genótipos, que aparentavam um aspecto depauperado e com grande quantidade de folhas

amareladas. Tal resposta pode estar associada à melhoria no transporte de nutrientes como N, K, Ca, P, Mg em mutantes *fri* observados por Carvalho *et al.*, (2016).

Maiores taxas fotossintéticas em função de maior disponibilidade de radiação, tal qual observado neste trabalho, é uma resposta muito comum (Markesteyn *et al.*, 2007; Ulqodry *et al.*, 2014) e já era esperado que ocorresse neste trabalho, uma vez que na condição de sombra havia uma redução de aproximadamente 40% da radiação, comparado à condição de sol. Também poderia ocorrer diferença quanto a influência das mutações em fitocromo sobre a fotossíntese, pela alteração da percepção luminosa, o que não ocorreu aos 28 DAE entre os genótipos estudados, no entanto aos 37 DAE maiores taxas fotossintéticas foram observadas apenas para os mutantes *tri* e *phyB2* somente nas condições de sombra em relação aos demais genótipos, e aos 55 DAE o mutante *fri* apresentou elevada taxa fotossintética na condição de sol em relação aos demais.

O melhor desempenho na taxa fotossintética do mutante *phyB2*, cultivado à sombra, aos 37 DAE em relação ao mutante *fri* e aos 55 DAE em relação aos demais mutantes sugere que a ação *phyB2* poderia atuar na regulação supressiva de algum fator relacionado à fotossíntese na condição de sombra, ainda mais quando se observa que essa maior taxa fotossintética aos 37 DAE não está relacionada a aumento de conteúdo de pigmentos fotossintéticos, além do rendimento quântico efetivo do fotossistema II, analisado aos 55 DAE, e rendimento quântico potencial, analisado aos 37 e 55 DAE, não diferir dos demais genótipos.

A intensidade luminosa é um dos principais fatores que influenciam a condutância estomática refletindo na eficiência de carboxilação (Costa & Marengo, 2007). Todos os genótipos, aos 28 e 37 DAE tiveram a condutância estomática e transpiração reduzidas à sombra em relação ao tratamento sol, com exceção do mutante *tri* que não apresentou diferenças na transpiração aos 37 DAE. As diferenças observadas indicam que o fator limitante à fotossíntese à sombra esteja mais relacionado às trocas gasosas do que à eficiência de carboxilação, que são os principais fatores limitantes da fotossíntese líquida (Tenhunen *et al.*, 1984). Corroborando com estas observações, percebe-se que não ocorreu variação no rendimento quântico potencial do fotossistema II dos genótipos em relação aos tratamentos, à exceção do mutante *fri*, que apresentou maior rendimento quântico potencial do fotossistema II em condições de sol comparativamente àqueles submetidos ao sombreamento.

Plantas sob sombreamento apresentam alterações que levam à maximização da captura de luz. Muitos autores relatam um aumento no conteúdo de clorofilas à medida que aumenta o nível de sombreamento, assim como a diminuição na razão clorofila a:b (Nakazono *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2006). Em plantas expostas a altas intensidades de radiação, consideram-se os processos fotooxidativos os responsáveis pela redução no conteúdo de clorofilas (Kramer &

Koslowski, 1979). A diminuição na razão clorofila a:b, à medida que diminui a intensidade de radiação, é discutida com ocorrendo em função do predomínio do espectro VE da radiação nas condições de sombra, provocando um aumento na atividade do fotossistema II, que é mais rico em clorofila *b* do que em clorofila *a* (Anderson, 1986). Entretanto, outros fatores podem estar envolvidos, pois Bjorkman (1981) não observou redução na razão clorofila a:b em ambientes predominantes com radiação VE. Os efeitos em resposta ao sombreamento estão relacionados com as mudanças no equilíbrio dos fitocromos, bem como a sensibilidade dos fotossistemas, atuando provavelmente como um sistema de aclimação de plantas a ambientes sombreados, na tentativa de maximizar a absorção de luz (Chow *et al.*, 1990).

O conteúdo de clorofila *a* em plantas sombreadas do genótipo selvagem, aos 37 DAE, foi maior que nas plantas cultivadas a pleno sol, presumindo-se que estas sofreram fotoxidação, ao passo que o mutante *tri* aos 28 DAE e 37 DAE, teve conteúdo de clorofila *a* menor que os demais genótipos na condição de sol, o que permite inferir que phyB1 esteja envolvido na regulação positiva de fotoproteção e manutenção do conteúdo de clorofila *a* na condição de sol. Visto que nas mesmas condições o mutante *tri* também teve redução do conteúdo de carotenoides, sugere-se que um possível mecanismo de fotoproteção da clorofila *a* possa depender do conteúdo de carotenoides, e portanto, regulado por phyB1. O papel dos carotenoides atuando como moléculas fotoprotetoras do aparato fotossintético e das clorofilas já é bem conhecido (Demmig-Adams & Adams, 1996), mas a relação do envolvimento dos fitocromos neste processo ainda carece de informações. As informações do presente trabalho corroboram com o estudo de Reed *et al.* (1993) no qual foi relatado que em plantas de *Arabidopsis* deficientes em fitocromo B apresentavam menor acúmulo de clorofila. Considera-se que o phyA e o phyB sejam os fitocromos mais influentes no controle da biossíntese de clorofila através da regulação de genes envolvidos no processo, cujos têm como fatores positivos ou negativos de expressão os fatores de interação de fitocromos, PIFs, 1,3,4, e 5 (Brouwer *et al.*, 2014; Castillon *et al.*, 2007).

De acordo com Lintig *et al.* (1997) somente o phyA, mas não o phyB, influencia a regulação positiva de alguns genes envolvidos na rota biossintética de carotenoides em *Arabidopsis*, mas somente a expressão desses genes não garantem aumento no conteúdo do pigmento, a não ser que o ambiente também favoreça aumento no conteúdo de clorofilas, tal qual observado no presente estudo no qual o ambiente que desfavoreceu o conteúdo de clorofila *a* também desfavoreceu o conteúdo de carotenoides totais.

Parâmetros da fluorescência da clorofila concede dados importantes para determinar de uma forma não-invasiva a eficiência quântica e o rendimento do fotossistema II, relacionando-os à assimilação de carbono (Genty *et al.* 1989). A fluorescência inicial (F_0) é obtida quando os

centros de reação do FSII estão “abertos” (quando todos os aceptores primários estão oxidados) e representa a emissão de luz pelas moléculas de clorofila *a* excitadas presentes no fotossistema. Aos 37 DAE o mutante *fri* e *tri* à sombra tinham maior quantidade de clorofila *a* que os demais genótipos e também os maiores valores de F_0 . No entanto, o mutante *tri* deteve menor quantidade de clorofila *a* na condição de sol mas não sofreu alterações de F_0 em relação ao genótipo selvagem.

A razão F_v/F_m fornece uma estimativa da eficiência quântica máxima potencial da fotoquímica do FSII (Butler 1978). F_v/F_m tem sido utilizado amplamente para detectar perturbações induzidas por estresses no aparato fotossintético, uma vez que fotodanos aos centros de reações podem diminuir os valores para este parâmetro (Baker & Rosenqvist., 2004). Aos 40 DAE não foram observadas diferenças estatísticas de F_v/F_m entre os genótipos submetidos aos diferentes tratamentos, e aos 55 DAE não foram observadas diferenças de F_v/F_m e F_q'/F_m' dos genótipos em relação aos tratamentos, à exceção do mutante *fri* que apresentou menor eficiência quântica potencial e efetiva do fotossistema II em condições de sombra comparativamente ao tratamento sol e do mutante *tri* que exibiu menor F_q'/F_m' quando cultivados em condições de sombra em comparação ao sol. Além disso, o mutante *tri* em sombreamento apresentou menor rendimento quântico efetivo que os demais genótipos.

O fato dos mutantes *fri* e *tri* terem menor desempenho tanto na eficiência quântica potencial quanto efetiva do fotossistema II nas plantas cultivadas à sombra em relação ao sol, e do mutante *tri* apresentar menor F_q'/F_m' que os demais genótipos em sombreamento, é um indício que o phyA e phyB1 têm juntos um papel importante na integridade ou na atividade desse fotossistema nessas condições. Um dos fatores que pode afetar a fluidez ou a estabilidade de membranas é o conteúdo de ácidos graxos insaturados, podendo afetar a atividade de proteínas de membrana, reações fotoquímicas e de transporte de elétrons (Kamada *et al.*, 1995). Por sua vez, foi observado que o conteúdo de ácidos graxos insaturados é negativamente regulado por phyB em arroz, onde mutantes com deficiência neste fitocromo tinham maior conteúdo destes ácidos, se revertendo em maior estabilidade na fluidez de membrana e eficiência quântica potencial do fotossistema II (Yang *et al.*, 2013). O fato de ser observado redução na razão F_q'/F_m' apenas no mutante *tri* de tomateiro à sombra evidencia que o phyB pode desencadear efeitos diferentes em função do genótipo em questão, além de haver diferença na ação de phyB1 e phyB2 sobre o parâmetro analisado.

A distribuição de fotoassimilados em diferentes órgãos de uma planta é um processo importante ao desenvolvimento vegetal e reflete a adaptabilidade da planta a diferentes condições ambientais (Kasperbauer, 1998). Entre as variáveis ambientais, a intensidade e qualidade da

radiação podem induzir alterações na morfologia interna e externa, bem como a distribuição de fotoassimilados pela planta (Ballare *et al.*, 1992).

O acúmulo preferencial de fotoassimilados nas raízes é uma característica típica de uma planta cultivada sob luz solar intensa (Ramos *et al.*, 2004) visto que maior biomassa radicular é necessária para absorver água e nutrientes do solo a fim de satisfazer a demanda da parte aérea. Estas respostas podem ser observadas no presente estudo, em que todos os genótipos cultivados em condições de sol, apresentaram maior razão da massa seca da raiz/massa seca total que aqueles submetidos à sombra. Dados que corroboram com o observado também foram relatados por Nakazono *et al.*, (2001) em plantas de *Euterpe edulis* Mart. a 50% de sombreamento. Diferenças entre os genótipos puderam ser observadas em ambos os tratamentos, aos 45 DAE, em que os os mutantes *fri*, *tri*, *phyB2* apresentaram maior acúmulo de biomassa nas raízes comparativamente ao genótipo selvagem. Aos 130 DAE, no tratamento sol, o mutante *fri* apresentou reduzida razão da massa seca da raiz/massa seca total comparativamente aos demais genótipos, o que sugere uma realocação de biomassa radicular durante o desenvolvimento bem como o *phyA* mediando esta resposta.

Ao final do ciclo de vida da planta a alocação de fotoassimilados em folhas foi maior nos mutantes *fri*, *tri*, e *phyB2* comparativamente ao genótipo selvagem, que deteve maior razão massa seca dos frutos/massa seca total em comparação aos mutantes. Embora o tamanho dos frutos do mutante *fri* tenham sido menores que os demais genótipos não se observou redução significativa estatisticamente na relação massa seca fruto:massa seca total, ao passo que o mutante *tri* exibiu menor valor desse parâmetro que os demais genótipos. Uma vez que houve relativa diminuição do parênquima paliçádico dos mutantes *fri* e *phyB2* e do parênquima esponjoso no mutante *fri* aos 55 DAE em relação aos 37 DAE, sugere-se que as mutações presentes em *fri* e *phyB2* favoreçam a remobilização de fotoassimilados ao enchimento de frutos, visto que aos 37 DAE não havia diferença estatística entre genótipos,

A efetividade dos fitocromos regulando partição de fotoassimilados já é conhecida na literatura assim como a variação desses efeitos em relação a diferentes genótipos (Boccalandro *et al.*, 2003; Schittenhelm *et al.*, 2004). Husaineid *et al.*, (2007) trabalhando com tomateiros que superexpressavam *phyA*, *phyB1* e *phyB2* observaram que a superexpressão de *phyB2* induzia redução na alocação de fotoassimilados para caules e raízes enquanto que a superexpressão de *phyB1* induzia a priorização da alocação em raízes ao invés de caules. Outros trabalho com mutantes fotomorfogénicos não específicos foi realizado por Melo *et al.* (2014) o qual evidencia que o mutante super-responsivo à luz *hpl* priorizava a alocação de fotoassimilados especialmente às raízes e folhas enquanto que o mutante *aurea*, deficiente em todos os fitocromos, priorizava a

alocação em frutos. Este é o primeiro trabalho a abordar a partição de fotoassimilados em mutantes simples defectivos em fitocromos, e apesar de existirem estudos prévios abordando a regulação dos fitocromos sobre a partição de fotoassimilados, a realização de comparações para com os resultados observados neste estudo exige cautela, uma vez que os estudos prévios foram realizados com mutantes que superexpressam fitocromos, ou têm alteração na sua sinalização, e também com aqueles que subexpressam todos os fitocromos. A cautela advém do fato de se conhecer grande interação intraespecífica dos fitocromos nas repostas fitocromo-dependentes e interespecífica para com os demais fotorreceptores na modulação dos seus efeitos fisiológicos (Chen *et al.*, 2004).

A espessura da epiderme em plantas é uma característica que tem se mostrado bastante plástica e responsiva a diferentes situações ambientais. Todos os genótipos, aos 37 DAE, tiveram a espessura das células epidérmicas da face adaxial maiores em condição de sol se comparadas às de sombra, característica não observada para face abaxial o que, teoricamente, se justificaria pela face adaxial ser mais exposta ao recebimento de radiação solar (Nascimento *et al.*, 20005; Lima Junior *et al.*, 2006). O mutante *tri* obteve maior espessura das células epidérmicas na face adaxial em relação aos demais genótipos, em ambos os tratamentos, e do parênquima esponjoso no tratamento sombra, indicando a participação do phyB1 na alongação celular, conforme observado por Smith *et al.* (1995), que propõe que o phyA e phyB podem controlar o alongamento polar de células, se comparados aos demais fitocromos. Contudo, Nagatani *et al.* (1993) não encontrou efeito do phyA na morfologia foliar em *Arabidopsis thaliana*, o que é compatível com o observado neste trabalho aos 37 DAE, em que os mutantes *fri* cultivados a pleno sol não tiveram diferenças na espessura das células da epiderme, do parênquima paliçádico e esponjoso em relação ao genótipo controle. Tsukaya *et al.* (2002) também relaciona tais características como sendo influenciadas pelo phyB. Entretanto, neste trabalho, aos 55 DAE, os mutantes *fri* obtiveram menor espessura das células epidérmicas, do parênquima paliçádico e esponjoso comparativamente ao genótipo controle no tratamento a pleno sol, reafirmando a sugestão de que o phyA tenha participação na remobilização de fotoassimilados destas estruturas à alocação nos frutos, resultando na diminuição do tamanho das mesmas.

Os parênquimas apresentam grande capacidade de respostas à radiação luminosa, influenciando a espessura foliar. Conforme observado neste trabalho, Kim *et al.* (2005) reporta que aumento na espessura dos parênquimas ocorre em função do aumento no número de camadas de células do parênquima paliçádico ou na diferenciação do padrão de expansão de células do mesofilo, alongando-se e contribuindo assim, para a absorção mais eficiente da radiação pelos tecidos. Chatelet *et al.* (2013) reporta que folhas de sol tendem a ter maior desenvolvimento dos parênquimas paliçádico e lacunoso do mesofilo foliar em comparação com as folhas de sombra

devido à maior taxa fotossintética que essas plantas apresentam em condições de alta saturação de luz. Uma vez que foi observado que, aos 37 DAE, todos os genótipos tiveram menor espessura de parênquima paliádico na condição de sombra, em relação a condição de sol, sugere-se que a deficiência de um único fitocromo, seja *phyA*, *phyB* ou *phyB2*, não seja capaz de reprimir essa resposta, e que, portanto, ela decorra da ação de vários fitocromos.

Os maiores índices e densidades estomáticas da face abaxial observados para os genótipos controle, *fri* e *phyB2* na condição de sol em relação à sombra, é um evento comum a folhas de sol e geralmente está associado a uma redução no tamanho dos estômatos, possibilitando o influxo de CO₂ necessário à fotossíntese, que também tende a ser maior na condição de sol, sem que haja perda excessiva de água pela transpiração (Lima Junior et al., 2006). O fato do mutante *tri* ter o menor índice e densidade estomática na epiderme abaxial em relação aos demais genótipos, quando cultivado na condição de pleno sol, indica que o *phyB* favorece o desenvolvimento dos estômatos, tal qual relatado por Kang *et al.* (2009) e Klermund *et al* (2016).

7 CONCLUSÃO

O mutante *fri* obteve menor área foliar total que os demais genótipos em ambos os tratamentos, e menor rendimento quântico potencial (F_v/F_m) e efetivo (F_q'/F_m') do fotossistema II na condição de sombra. Aos 130 DAE o mutante *fri* obteve redução da biomassa seca das raízes/massa seca total, ao passo que a alocação de fotoassimilados em folhas foi maior comparativamente ao genótipo selvagem. O mutante *fri* teve menor área do elemento de vaso em comparação aos demais genótipos, bem como maior densidade estomática da face abaxial na condição de sol.

O mutante *tri* obteve maior altura que os demais genótipos na condição de sombra, e menor área foliar total em ambos os tratamentos. Em condições de sol foram observadas menores quantidades de clorofila *a* e carotenoides no mutante *tri* em relação aos demais genótipos, e na condição de sombra, o mutante *tri* teve menor rendimento quântico potencial (F_v/F_m) e efetivo (F_q'/F_m') do fotossistema II. Aos 130 DAE, o mutante *tri* deteve maior alocação de fotoassimilados em folhas comparativamente ao genótipo selvagem.

O mutante *phyB2* submetido em condições de sombra obteve maior taxa fotossintética que os demais genótipos. A alocação de fotoassimilados aos 130 DAE em folhas foi maior no mutante *phyB2* comparativamente ao genótipo selvagem e a densidade estomática da face abaxial foi maior para o mutante *phyB2* na condição de sol.

Observou-se maior altura para todos os genótipos na condição de sombra em relação ao tratamento sol. A altura das células epidérmicas da face adaxial, os parênquimas paliádico e esponjoso, a altura do xilema, bem como a taxa fotossintética foram maiores na condição de sol em relação à sombra para todos os genótipos.

Conclui-se que a deficiência dos fitocromos específicos nos mutantes estudados induzem a diferentes respostas nas condições de sol e sombra

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBA, M. M.; CORDONNIER-PRATT, PRATT, L. H.; VALENZANO, C. J.; KAYS, S. J. 1999. Genetic manipulation of phytochromes in tomato *lycopersicon esculentum* mill.: a novel approach to crop improvement. *Acta Horticulturae*.
- ANDERSON, J, M. 1986. Photoregulation of the Composition, Function, and Structure of Thylakoid Membranes. *Annual Review of Plant Physiology* 37: 93-136.
- AUGE G.A.; RUGNONE, M. L.; CORTÉS, L. E.; GONZÁLEZ, C.V.; ZARLAVSKY G.; BOCCALANDRO, H. E.;SÁNCHEZ, R. A. 2012. Phytochrome A increases tolerance to high evaporative demand. *Physiologia Plantarum* 146: 228-235.
- BAE, G.; CHOI, G. 2008. Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. *Annu Rev Plant Biol.*, 59 : 281–311.
- BAKER N. R.; ROSENQVIST E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55: 1607-1621.
- BALLARÉ, C. L., SCOPEL, A. L., SÁNCHEZ, R. A.1992. Photomorphogenic processes in the agricultural environment. *Photochemistry and Photobiology*. 56: 777-788.
- BJORKMAN, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. *Physiological plant ecology* 12:57-107.
- BOCCALANDRO H.E; PLOCHUK E.L; YANOVSKY M.J.; SÁNCHEZ R. A.; GATZ, C.; CASAL, J.J. 2003. Increase phytochrome B alleviates density effects on tuber yield of field potato crops. *Plant Physiology* 133: 1539-1546.
- BORTHWICK H.A.; HENDRICKS S.B.; PARKER, M.W.; TOOLE, E.H.; TOOLE V.K. 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 38: 662-666.
- BORTHWICK, H.A.; HENDRICKS S.B.; TOOLE, E.H.; TOOLE, V.K. 1954. Action of light on lettuce seed germination. *Botanical Gazette* 115 (3): 205-225.
- BORTHWICK, H.A.; 1957. Light effects on tree growth and seed germination. *Ohio Journal of Science* 57 (6): 357-364.

- BROUWER, B.; ZIOLKOWSKA, A.; BAGARD, M.; KEECH, O.; GARDESTRÖM, P. 2012. The impact of light intensity on shade-induced leaf senescence. *Plant, Cell and Environment* 35:1084–1098.
- BROUWER, B.; GARDESTRÖM, P.; KEECH, O.; 2014. In response to partial plant shading, the lack of phytochrome A does not directly induce leaf senescence but alters the fine-tuning of chlorophyll biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*.
- BUISSON, D.; LEE, D. W. 1993. The Developmental Responses of Papaya Leaves to Simulated Canopy Shade. *American Journal of Botany* 80:8.
- BUTLER WL. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 345-378.
- CAMPOS, M. L.; CARVALHO, R. F.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. 2010. Small and remarkable: the Micro-Tom model system as a tool to discover novel hormonal functions and interactions. *Plant Signaling & Behavior* 5: 50-54.
- CAO, K.; CUI, L.; YE, L.; ZHOU, X.; BAO, E.; ZHAO, H.; ZOU, Z. 2016. Effects of Red Light Night Break Treatment on Growth and Flowering of Tomato Plants. *Front Plant Sci.* 7:527.
- CARVALHO, R. F. 2003. Uso de mutantes fotomorfológicos no estudo da competência para regeneração in vitro em micro-tomateiro (*Lycopersicon esculentum* cv. MicroTom). 5p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- CARLQUIST, S. 1985. Observations on functional wood histology of vines and lianas: vessel dimorphism, tracheids, vasicentric tracheids, narrow vessels, and parenchyma. *Aliso* 11: 139-157
- CARVALHO, R. F.; CAMPOS, M. L.; AZEVEDO, R. A. 2011. The role of phytochrome in stress tolerance. *Journal of Integrative Plant Biology* 53 (12): 920-929.
- CARVALHO, R. F.; MODA L. R., SILVA, G. P.; GAVASSI, M. A.; PRADO, R. M. 2016. Nutrition in tomato (*Solanum lycopersicum* L) as affected by light: revealing a new role of phytochrome A. *AJCS* 10(3):331-335.
- CASAL, J. J.; 2012. Shade Avoidance. *Arabidopsis Book*. 10: 0157.
- CASTILLON A, SHEN H.; HUQ, E. 2007. Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks. *Trends in Plant Science* 12 (11): 514-521.

- CHEN, M.; TAO, Y.; LIM, J.; SHAW, A.; CHORY, J. 2005. Regulation of phytochrome B nuclear localization through light-dependent unmasking of nuclear-localization signals. *Current Biology* 15: 637-642.
- CHEN, M.; CHORY, J.; FANKHAUSER, C. 2004. Light signal transduction in higher plants. *Annual Review Genetics* 38: 87-117.
- CHOW, W. S., GOODCHILD, D. J. MILLER, C.; ANDERSON, J. M. 1990. The influence of high levels of brief or prolonged supplementary far-red illumination during growth on the photosynthetic characteristics, composition and morphology of *Pisum sativum* chloroplasts. *Plant, Cell and Environment* 13: 135-145.
- COSTA, G. C.; MARENCO, R. A.; 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica* 37(2): 229 – 234.
- CUTTER, E. G. 1986. ANATOMIA VEGETAL. Parte I Células e tecidos. 2.ed. São Paulo: Roca. 304 p.
- D'AMICO-DAMIÃO, V., CRUZ, F. J. R., GAVASSI, M.A., D. M. M. SANTOS, D. M. M., MELO, H. C., CARVALHO, R. F. 2015. Photomorphogenic modulation of water stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.): the role of phytochromes A, B1, and B2. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 90 (1) 25–30.
- DALE, J. E. 1988. The Control of Leaf Expansion. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* 39: 267-295.
- DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. , 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1:21-26.
- DUTRA T.R.; GRAZZIOTTI, P.H.; SANTANA, R.C.; MASSAD, M.D. 2012 Desenvolvimento inicial de mudas de copaíba sob diferentes níveis de sombreamento e substratos. *Revista Ciência Agronômica*. 43:321-329.
- EMMANUEL, E.; LEVY, A.A. 2002. Tomato mutants as tools for functional genomics. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 112-117.
- FANKHAUSER C.; CHEN, M. 2008. Transposing phytochrome into the nucleus. *Trends in Plant Science* 13 (11): 596-601.

- FANKHAUSER, C.; CHORY, J. 1997. Light control of plant development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 13: 203-229.
- FRANCK, N.; VAAST, P. 2009. Limitation of coffee leaf photosynthesis by stomatal conductance and light availability under different shade levels. *Trees*. 23:761-769.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.; BAKER, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92.
- GONÇALVES, J.F.C.; MARENCO, R.A.; VIEIRA, G. 2001. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v.13, n.2, p.49–157.
- GRATANI, L., COVONE, F.; LARCHER, W. 2006. Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. *Trees* 20: 549-558.
- HALL, A.; KOZMA-BOGNÁR, L.; TÓTH, R.; NAGY, F.; MILLAR, A.J. 2001. Conditional circadian regulation of PHYTOCHROME A gene expression. *Plant Physiol.* Dec;127(4):1808-18.
- HANBA, Y.T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. 2002. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in Acer species differing in light demand. *Plant Cell and Environment*, 25:1021-1030.
- HENDRY, G.A.F.; PRICE, A.H. 1993. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. *Methods in Comparative Plant Ecology*. 148-152.
- HUQ, E., QUAIL, P.H. (2002). PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in Arabidopsis. *EMBO J.* 21: 2441–2450.
- HUSAINID, S. H.; KOK, R. A.; SCHREUDER, M. E. L.; VAN DER PLAS, L. H. W.; VAN DER KROL, A. R. (2007). Characterization of tomato lines with ectopic expression of the tomato PHYA, PHYB1, and PHYB2 genes. *Genetic modification of shade-avoidance: overexpression of homologous phytochrome genes in tomato*, 58, 31.
- KASPERBAUER, M.J.; HAMILTON, J.L. 1984. Chloroplast structure and starch grain accumulation in leaves that received different red and far-red levels during development. *Plant Physiology*. 74:967-970.

- KASPERBAUER, M. J.; HUNT, P. G. 1998. Far-red light affects photosynthate allocation and yield of tomato over red mulch. *Crop Science* 38:970-974.
- KENDRICK, R.E; KRONENBERG, G.H.M. (Ed.). 1994. Photomorphogenesis in Plants. 2nd ed. Dordrecht: Academic Publishers
- KENDRICK, R.E.; KERCKHOFFS, L.H.J.; VAN TUINEN, A.; KOORNNEEF, M. 1997. Photomorphogenic mutants of tomato. *Plant Cell and Environment*. 20: 746-751.
- KERCKHOFFS, L.; SCHREUDER, M.; VAN TUINEN, A.; KOORNNEEF, M.; KENDRICK, R. 1997 Phytochrome control of anthocyanin biosynthesis in tomato seedlings: analysis using photomorphogenic mutants. *Photochem Photobiol* 65: 374–381.
- KERCKHOFFS, L.H.J; KELMENSEN, P.M.; SCHREUDER M.E.L.; KENDRICK, R.E.; KENDRICK, R.E.; HANHART, C.G.; KOONEEF, M.; PRATT, L.H.; CORDONNIER-PRATT, M. M. 1999. Characterization of the gene encoding the apoprotein of phytochrome B2 in tomato an indentification of molecular lesions in two mutants alleles. *Molecular and General Genetics* 261: 901-907.
- KERCKHOFFS, L.H.J.; VAN TUINEN, A.; HAUSER, B.A.; CORDONNIER-PRATT, M. M.; NAGATANI, A.; KOORNNEEF, M.; PRATT, L. H.; KENDRICK R.E. 1996. Molecular analysis of *tri*-mutant alleles in tomato indicates the *TRI* locus is the gene encoding the apoprotein of phytochrome B1. *Planta* 199:152–157.
- KEVEI, E; SCHAFER, E.; NAGY, F. 2007. Light-regulated nucleo-cytoplasmic partitioning of phytochromes. *Journal of Experimental Botany* 58 (12): 3113-3124.
- KIM, G.T.; YANO, S.; KOZUKA, T.; TSUKAYA, K. 2005. Photomorphogenesis of leaves: shade-avoidance and differentiation as sun and shade leaves. *Photochemistry Photobiology Science* 4: 770-774.
- KLERMUND, C.; RANFTL, Q. L.; DIENER, J.; BASTAKIS, E.; RICHTER, R.; SCHWECHHEIME, C. 2016. LLM-Domain B-GATA Transcription Factors Promote Stomatal Development Downstream of Light Signaling Pathways in *Arabidopsis thaliana* Hypocotyls. *The Plant Cell*, Vol. 28: 646–660.

- KOZUKA, T.; HORIGUCHI, G.; KIM, G.T.; OHGISHI, M.; SAKAI, T.; TSUKAYA H. 2005. The different growth responses of the *Arabidopsis thaliana* leaf blade and the petiole during shade avoidance are regulated by photoreceptors and sugar. *Plant Cell Physiol.* 46(1):213-23.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Rio de Janeiro: *Editora Universidade Rural*. 198 p.
- KUREPIN, L.V.; EMERY, R.J.N.; PHARIS, R.P.; REID, D.M. 2007. Uncoupling light quality from light irradiance effects in *Helianthus annuus* shoots: putative roles for plant hormones in leaf and internode growth. *J Exp Bot* 58: 2145–2157.
- LAZAROVA, G. L.; KERCKHOFFS, L.H.J.; BRANDSTÄDTR, J.; MATSURI, M.; KENDRICK, R.E.; CORNONIEER-PRATT, M.M.; PRATT, L.H. 1998. Molecular analysis of PHYA in wild-type and phytochrome A-deficient of mutant tomato. *The Plant Journal* 14(6): 653-662.
- LEIVAR, P.; MONTE, E. 2014. PIFs: systems integrators in plant development. *Plant Cell* 26(1):56-78.
- LI, L. & LAGARIAS, J.C. 1992. Phytochrome assembly: defining chromophore structural requirements for covalent attachment and photoreversibility. *Journal of Biological Chemistry* 267 (27): 19204-19210.
- LICHTENTHALER, H.K.; MAREK, M.V.; KALINA, J.; URBAN, O. (2007). Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* 45:577-588.
- LIEBERMAN, M.; SEGEV, O.; GILBOA, N.; LALAZAR, A.; LEVIN, I. 2004. The tomato homolog of the gene encoding UV-damaged DNA binding protein 1 (DDB1) underlined as the gene that causes the high-pigment-1 mutant phenotype. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 1574-1581.
- LIMA JUNIOR, E.C.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M. 2006. Physioanatomy traits of leaves in young plants of *Cupania vernalis* camb. subjected to different shading levels. *Revista Árvore*. 30:33-41.
- LINTIG, J.; WELSCH, R.; BONK, M.; GIULIANO, G.; BATSCHAUER, A.; KLEINIG, H. 1997. Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis occurs at the level of phytoene synthase

expression and is mediated by phytochrome in *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant J.* 12(3):625-34.

LIU, J.; ZHANG, F.; ZHOU, J.; CHEN, F.; WANG, B.; XIE, X. 2012. Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *Plant Molecular Biology* 78: 289-300.

LIU, Y.; ROOF, S.Y.E.Z.; BARRY, C.; VAN TUINEN, A.; VREBALOV, J.; BOWLER, C.; GIOVANNONI, J. 2004. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 101 (26): 9897-9902.

MARKESTEIJN, L.; POORTER, L.; BONGERS, F. 2007. Light-dependent leaf trait variation in 43 tropical dry forest tree species. *American Journal of Botany* 94(4): 515-525.

MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; ALVES, E.; PERINA, F. J. 2011 Anatomia foliar de microtomaterios fitocromomutantes e ultraestrutura de cloroplastos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 35(1): 11-18.

MELO, H. C.; CONSTANTINO, E. J.; CACHO, R. C.; CARVALHO, R. F. 2014. Partição de fotoassimilados e aspectos morfoanatômicos em tomateiros mutantes fotomorfo genéticos. *Bioscience Journal* 30(2).

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; OLIVEIRA, C.; RAMOS, S.J. 2009. Características fisiológicas de microtomateiros fitocromo-mutantes. *Ciência e Agrotecnologia* 33 (5): 1213-1219.

MUELLER, L. A.; LANKHORST, R. K.; TANKSLEY, S. D.; GIOVANNONI, J. J.; WHITE, R., VREBALOV, J. 2009. A snapshot of the emerging tomato genome sequence. *Plant Genome* 2: 78-92.

MURAMOTO, T.; KAMI, C.; KATAOKA, H.; IWATA, N.; LINLEY, P.J.; MUKOUGAWA, K.; YOKOTA, A.; KOHCHI, T. 2005. The tomato photomorphogenetic mutant *aurea* is deficient in phytochromobilin synthase for phytochrome chromophore biosynthesis. *Plant Cell Physiology* 46 (4): 661-665.

NAGATANI, A. 2004. Light-regulated nuclear localization of phytochromes. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 708-711.

- NAGATANI, A.; REED, J. W.; CHORY, J. 1993. Isolation and Initial Characterization of Arabidopsis Mutants That Are Deficient in Phytochrome A. *Plant Physiol.* 102(1): 269–277.
- NAKAZONO, E. M.; COSTA, M. C.; FUTATSUGI, K.; PAULILO, M. T. S.; 2001. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. *Rev. bras. Bot.* 24 (2): 173-179.
- NASCIMENTO, E. A.L.; PLIVEIRA, L. E. M.; CASTRO, E. M.; DELÚ FILHO, N.; MESQUITA, A. C.; VIEIRA, C. V. 2005. Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) consorciado com seringueira (*Hevea brasiliensis*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 852-857.
- PAIVA, L.C.; GUIMARÃES, R.J.; SOUZA, C.A.S. 2003 Influência de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento de mudas de cafeeiro (*coffea arabica* l.). *Ciência e Agrotecnologia.* 27:134-140.
- PRATT, L. H.; CORDONNIER-PRATT M.M.; KELMENSEN, P. M.; LAZAROVA, G. I.; KUBOTA, T.; ALBA, R.M. 1997. The phytochrome gene family in tomato (*Solanum lycopersicon* L.) *Plant, Cell and Environment* 20: 672-677.
- QUAIL, P.H. 2002. Phytochrome photosensory signalling networks. *Nature Review Molecular and Cell Biology* 3: 85-93.
- RAMOS, K. M. O.; FELFILI, J. M.; FAGG, C. W.; SOUSA-SILVA, J. C.; FRANCO, A. C. 2004. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemao) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. *Acta Botanica Brasilica* 18:351-358.
- REED, J. W.; NAGPAL, P.; POOLE, D. S.; FURUYA, M.; CHORY, J. 1993. Mutations in the gene for the red/far-red light receptor phytochrome B alter cell elongation and physiological responses throughout Arabidopsis development. *Plant Cell* 5(2): 147–157.
- ROBSON, P.R.; WHITELAN, G.C.; SMITH, H. 1993. Selected components of the shade avoidance syndrome are displayed in a normal manner in mutants of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica rupa* deficient in phytochrome B. *Ultramicroscopy* 102: 1179-1184.
- ROSSATTO, D.R.; TAKAHASHI, F.S.C.; SILVA, L. C.R.; FRANCO, A. C. 2010 Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. *Acta bot. bras.* 24(3): 640-647.

- SARIJEVA, G.; KNAPP, M.; LICHTENTHALER, H.K. 2007. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of Ginkgo and Fagus. *Journal of Plant Physiology* 164: 950-955.
- SCHETTINI, E. 2011. Nets for peach protected cultivation. *J. of Ag. Eng. - Riv. di Ing. Agr* 4:25-31.
- SCHITTENHELM, S.; MENGE-HARTMANN, U.; OLDENBURG, E. 2004. Photosynthesis, Carbohydrate Metabolism, and Yield of Phytochrome-B-Overexpressing Potatoes under Different Light Regimes. *Crop Science* 44:131-143.
- SCHLUTER, U.; MUSCHAK, M.; BERGER, D.; ALTMANN, T. 2003 Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. *Journal of Experimental Botany*, 54: 867-874.
- SEARLE, S.Y.; THOMAS, S.; GRIFFIN, K.L.; HORTON, T.; KORNFELD, A. YAKIR, D.; HURRY, V.; TURNBULL, M.H. 2011 Leaf respiration and alternative oxidase in field-grown alpine grasses respond to natural changes in temperature and light. *New Phytologist*, 189: 1027-1039.
- SHARROCK, R. A.; CLARCK, T. 2002. Patterns of expression of normalized levels of the five Arabidopsis phytochrome. *Plant Physiology* 130: 442-456.
- SHIN, J.; ANWER, M.U.; DAVIS, S. J.; 2013. Phytochrome-interacting factors (PIFs) as bridges between environmental signals and the circadian clock: diurnal regulation of growth and development. *Molecular Plant* 6:592–595.
- SHINOMURA, T.; UCHIDA, K.; FURUYA, M. 2000. Elementary processes of photoperception by phytochrome A for high-irradiance response of hypocotyl elongation *Arabidopsis*. *Plant physiology* 122: 147-156.
- SONG, Y.H.; SHIM, J. S.; KINMONTH-SCHULTZ, H. A.; IMAIZUMI, T. 2015. Photoperiodic Flowering: Time Measurement Mechanisms in Leaves. *Annu Rev Plant Biol.* 66: 441–464.
- SUN, H.J.; UCHII, S.; WATANABE, S.; EZURA, H. 2006. A highly efficient transformation protocol for Micro-Tom, a model cultivar for tomato functional genetics. *Plant Cell Physiology* 47: 426-431.

- TAKASHIMA, K.; HIKOSAKA.; HIROSE, T. 2004. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species T. *Plant, Cell and Environment* 27: 1047–1054.
- TENHUNEN, J.D.; LANGE, O.L.; GEBEL, J.; BEYSCHLAG, W.; WEBER, J.A. 1984. Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO₂ compensation point associated with midday stomatal closure and midday depression of net CO₂ exchange of leaves of *Quercus suber*. *Planta* 162:193-203.
- TERASHIMA, I.; MIYAZAWA, S.; HANBA, Y. J. 2001. Why are Sun Leaves Thicker than Shade Leaves? Consideration based on Analyses of CO₂ Diffusion in the Leaf. *Plant Res* 114: 93-105.
- TERRY, M.J.; KENDRICK, R.E. 1996. The *aurea* and yellowgreen-2 mutants of tomato are deficient in phytochrome chromophore synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 271 (35): 21681-21686.
- TÓTH, R.; REVEI, E.; HALL, A.; MILLAR, A. J.; NAGY, A. F.; KOSMABOGNAR, L. 2001. Circadian clock-regulated expression of phytochrome and cryptochrome genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 127: 1607-1616.
- TSUKAYA, H., KOZUKA, T., KIM, G. T. 2002. Genetic control of petiole length in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 43(10):1221-8.
- ULQODRY, T.Z.; MATSUMOTO, F.; OKIMOTO, Y.; NOSE, A.; ZHENG, S.H. 2014. Study on photosynthetic responses and chlorophyll fluorescence in *Rhizophora mucronata* seedlings under shade regimes. *Acta Physiol Plant* 36: 1903.
- VALLADARES, F.; NIINEMETS, U. 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 237-257.
- VAN TUINEN, A., CORDONNIER-PRATT, M.M, PRATT, L.H, VERKERK, R., ZABEL, P. & KOORNNEF M. 1997. The mapping of phytochrome genes and photomorphogenic mutants of tomato. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 115-122.
- VAN TUINEN, A.; KERCKHOFFS, L.H.; NAGATANI, A.; KENDRICK, R.E.; KOORNNEF, M. 1995a. Far-red light insensitive, phytochrome A, deficient mutants of tomato *Mol. Gen. Genet* 246: 133-141.

- VAN TUINEN, A.; KERCKHOFFS, L.; NAGATANI, A.; KENDRICK, R.E.; KOORNNEEF, M. 1995b. A temporarily red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. *Plant Physiology*, 108:939-947.
- WANG, M.L.; JIANG, Y.S.; WEI, J.Q.; WEI, X.; QI, X.X.; JIANG, S.Y.; WANG, Z.M. 2007. Effects of irradiance on growth, photosynthetic characteristics and artemisinin content of *Artemisia annua* L.. *Photosynthetica* 46(1): 17–20.
- WELLER, J. L.; PERROTTA, G.; SCHREUDER, M. E. L.; VAN TUINEN, A.; KOORNNEEF, M.; GIULIANO, G.; KENDRICK, R. E. 2001. Genetic dissection of blue-light sensing in tomato using mutants deficient in cryptochrome 1 and phytochromes A, B1 and B2. *The Plant Journal* 25:427-440.
- YANG, J.; LEE, S.; HANG, R.; KIM, S.R.; LEE, Y.S. 2013. OsVIL2 functions with PRC2 to induce flowering by repressing *OsLFL1* in rice. *Plant J.* 73:566–78.
- KANG, C. Y.; LIAN, H. L.; WANG, F. F.; HUANG, J. R.; YANG, H. Q. 2009. Cryptochromes, Phytochromes, and COP1 Regulate Light-Controlled Stomatal Development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, Vol. 21: 2624–2641.

MATERIAL SUPLEMENTAR

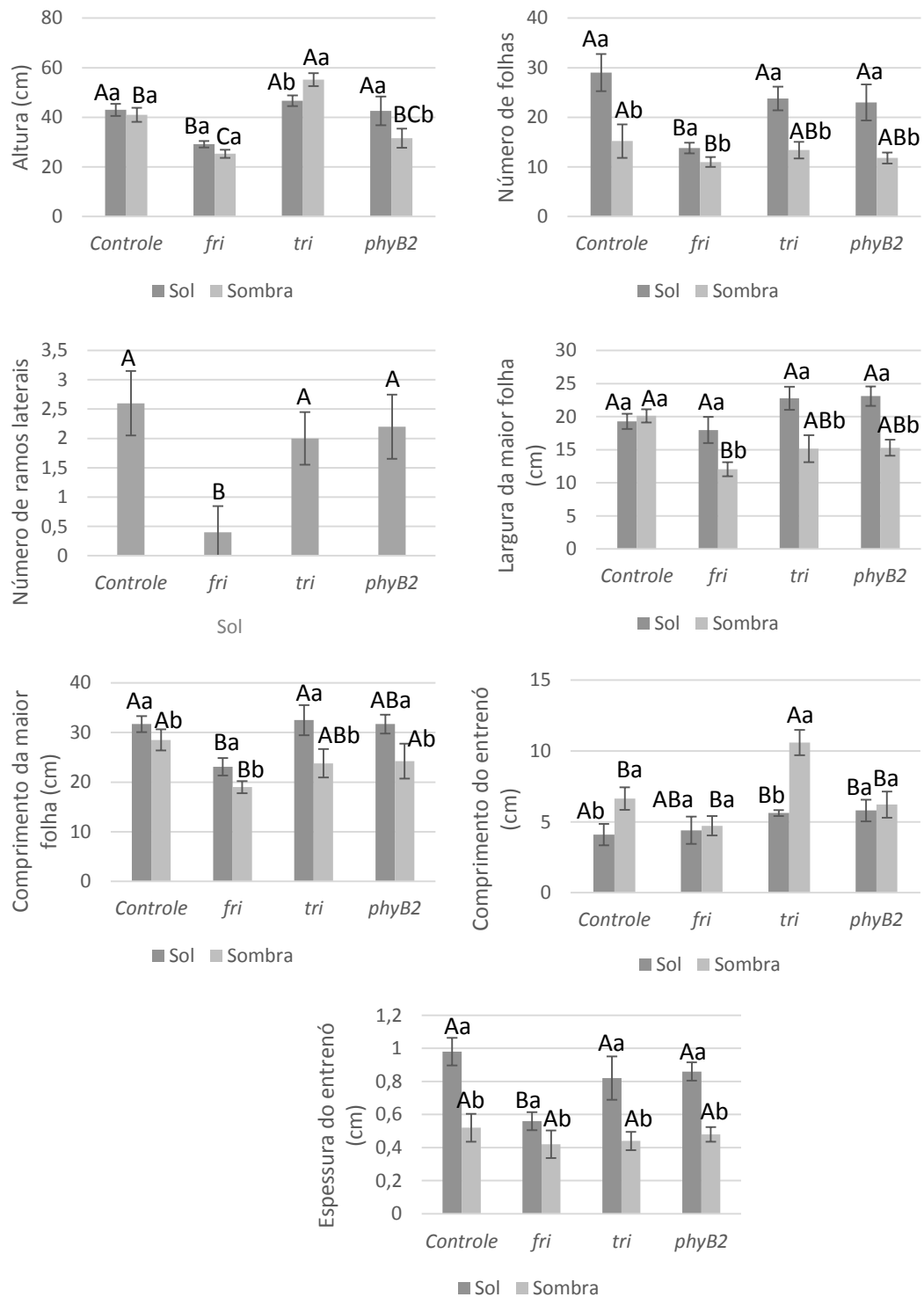


Figura 1: Altura, número de folhas, número de ramos laterais, comprimento da maior folha, largura da maior folha, altura do entrenó, espessura do entrenó do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol e sombra (28 DAE). As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos de um mesmo tratamento.

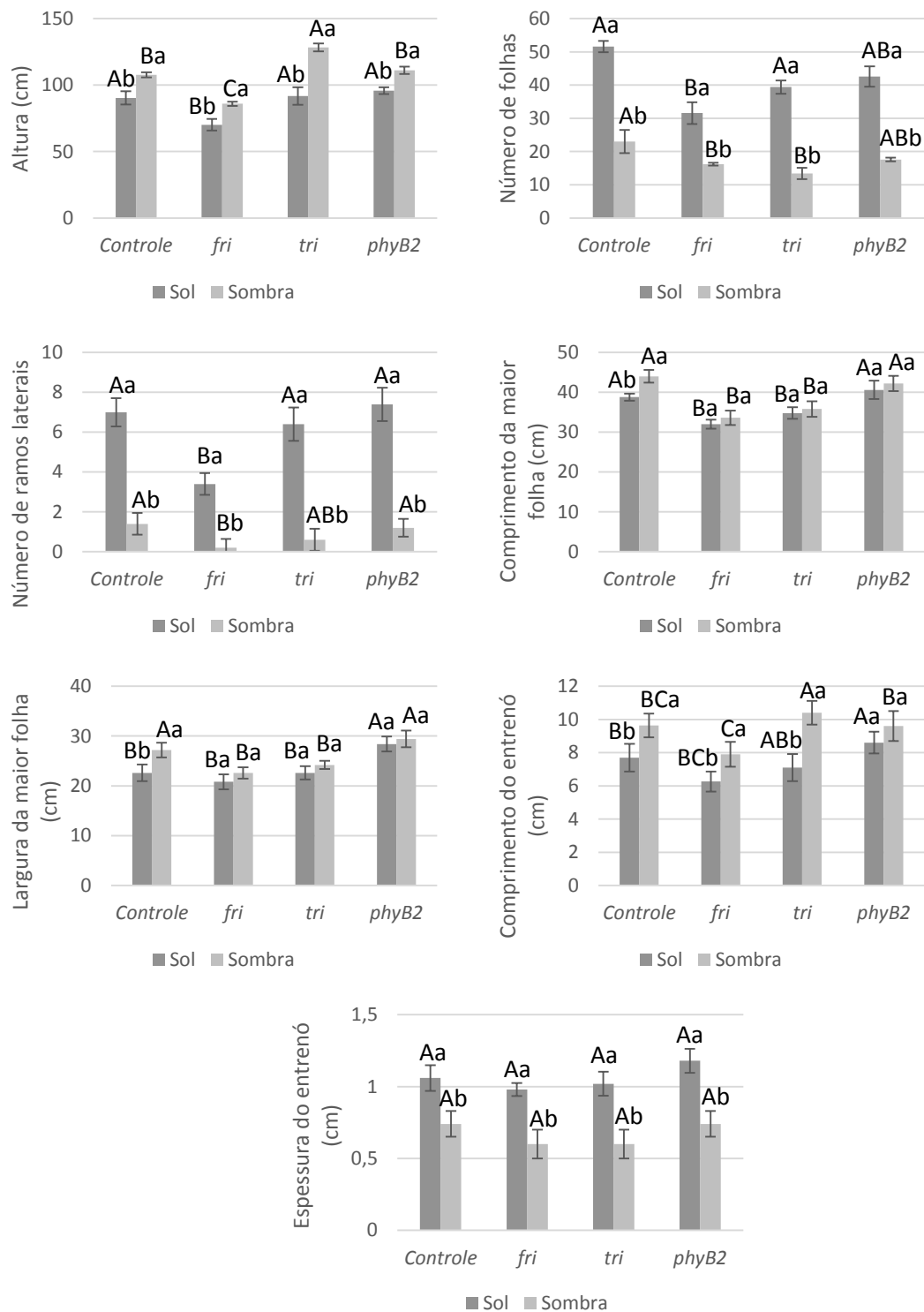


Figura 2: Altura, número de folhas, número de ramos laterais, comprimento da maior folha, largura da maior folha, altura do entrenó, espessura do entrenó do genótipo selvagem e dos mutantes *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol e sombra (45 DAE). (n=5) As barras indicam desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos de um mesmo tratamento

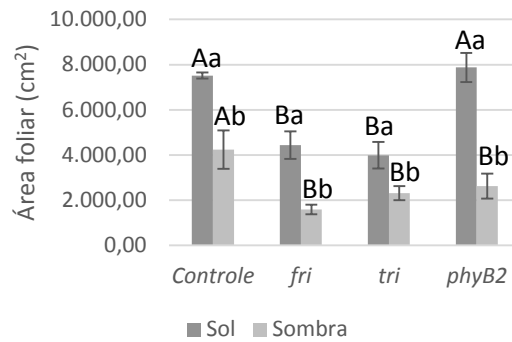


Figura 3: Área foliar dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol e sombra aos 28 DAE. As barras indicam desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ($n=4$) Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

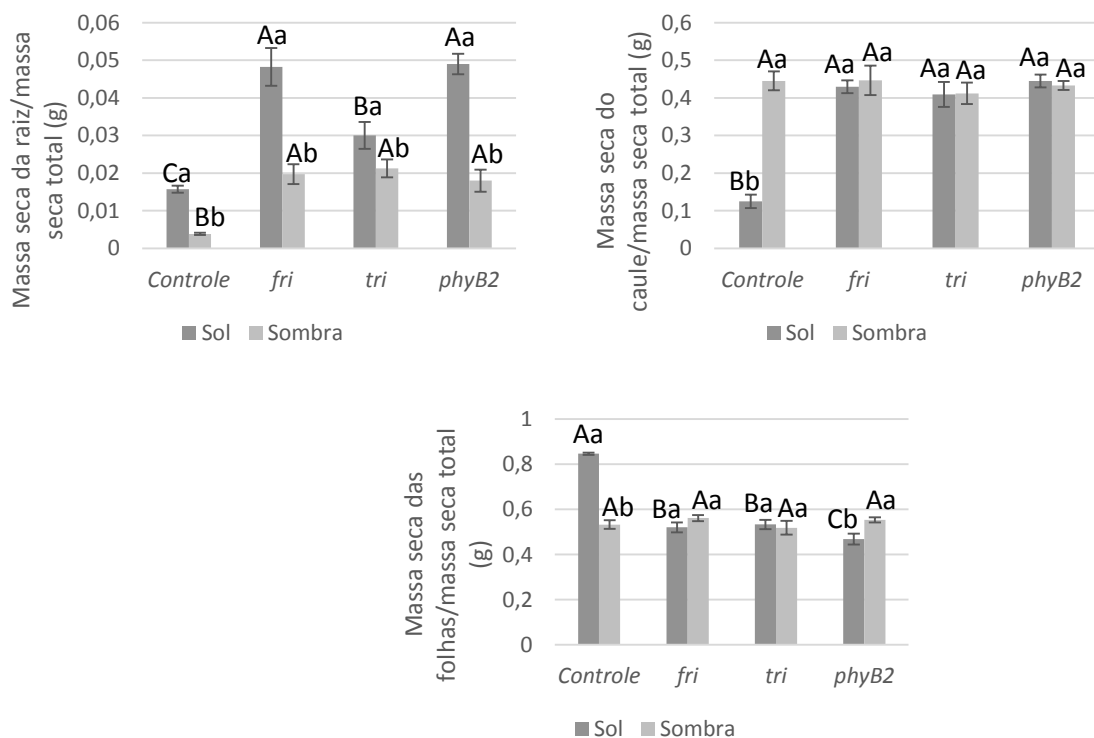


Figura 4: Partição de fotoassimilados entre os genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* de tomateiros em condições de sol e sombra, aos 45 DAE. As barras indicam desvio padrão. ($n=4$) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre os genótipos dentro de um mesmo tratamento.

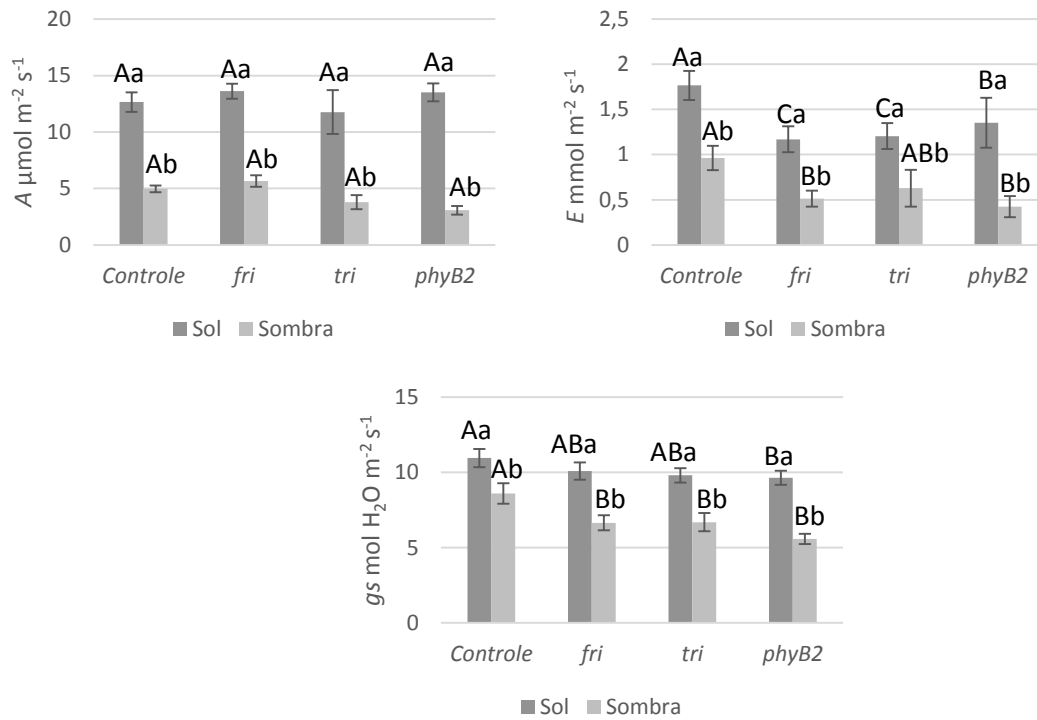


Figura 5: Taxas de fotossíntese líquida (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) das folhas dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* aos 28 dias após o tratamentos sol e sombra. As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

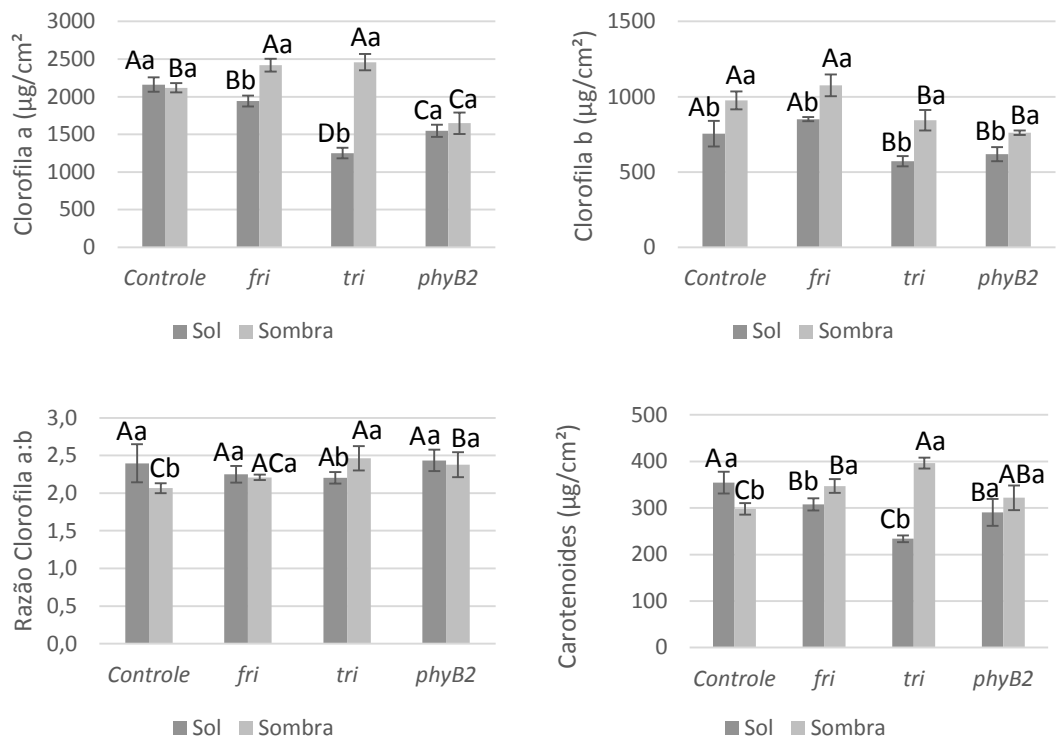


Figura 6: Quantidades de clorofila *a*, clorofila *b*, razão clorofila *a*: clorofila *b* e carotenoides e dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB* submetidos aos tratamentos sol e sombra, aos 28 DAE. (n=4). As barras indicam desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

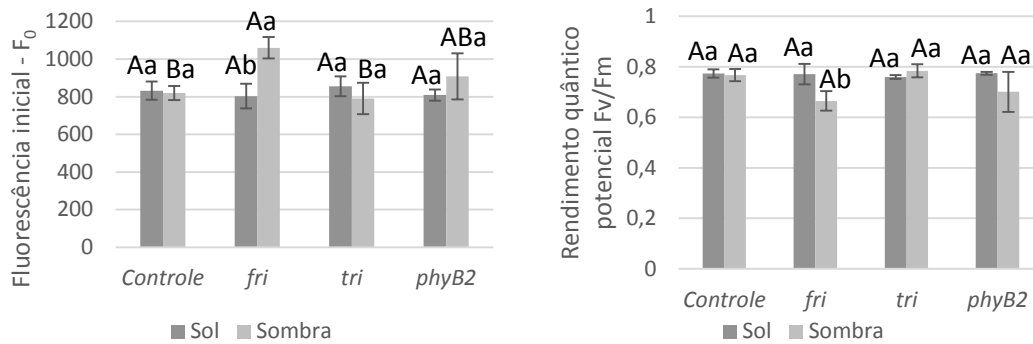


Figura 7: Fluorescência inicial (F₀), rendimento quântico potencial (F_v/F_m) dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* aos 37 DAE sob condições de sol e sombra. As barras indicam desvio padrão amostral (n=5). Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

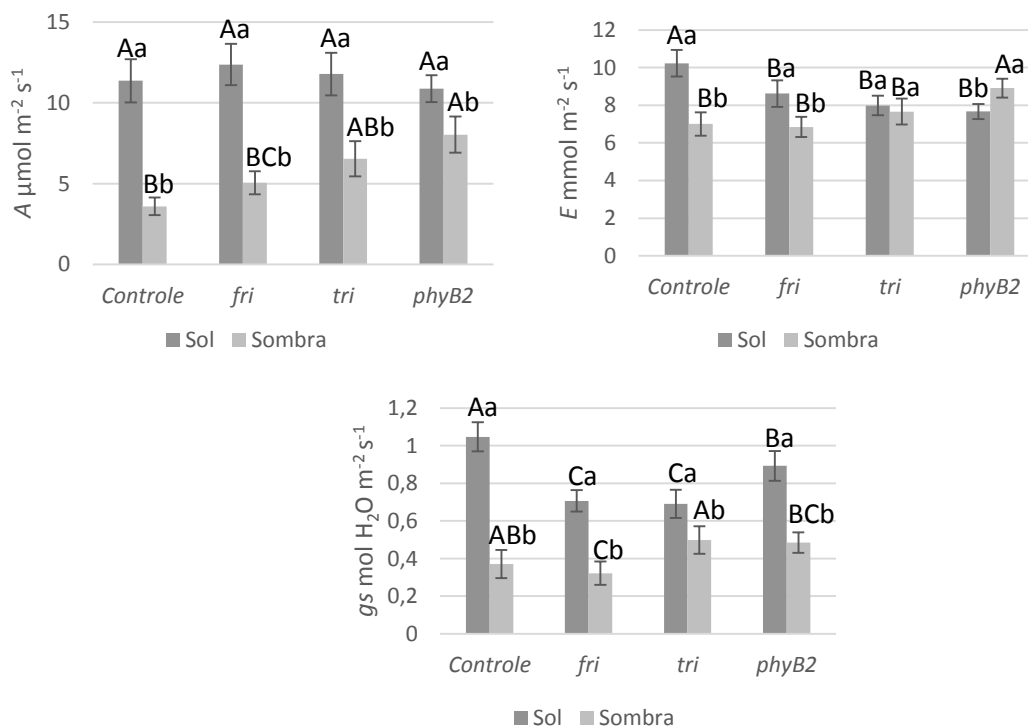


Figura 8: Taxas de fotossíntese (A em μmol m⁻² s⁻¹), transpiração (E em mmol m⁻² s⁻¹) e condutância estomática (g_s em mol H₂O m⁻² s⁻¹) das folhas dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* aos 37 DAE submetidos aos tratamentos sol e sombra. As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

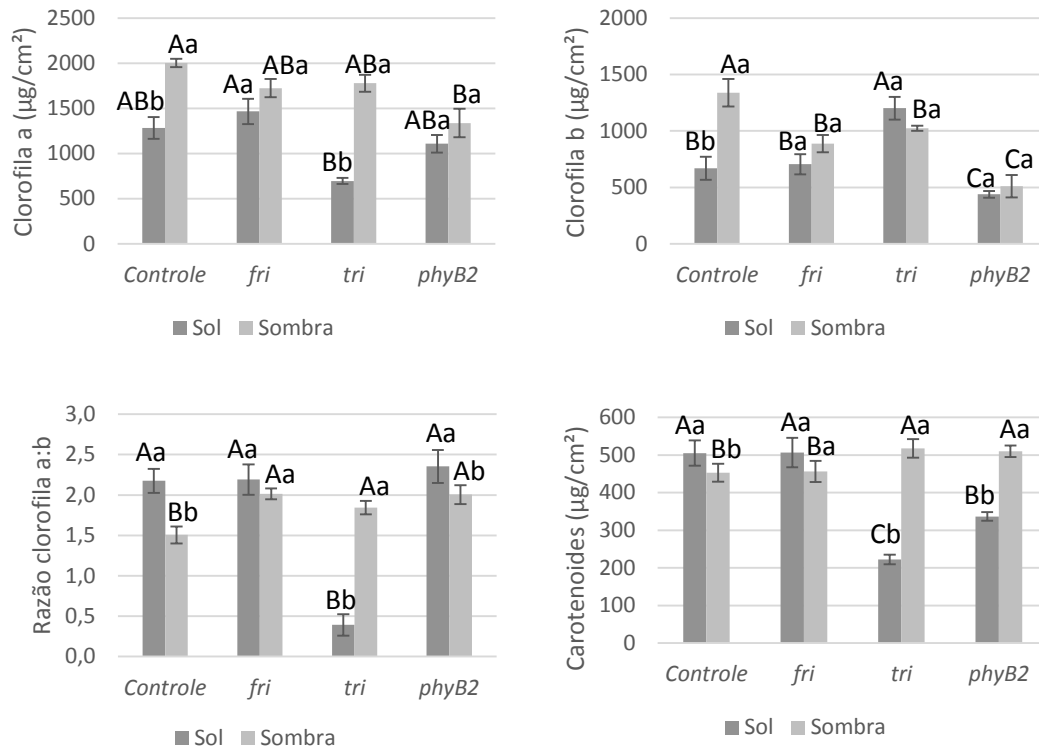


Figura 9 : Quantidades de clorofila *a*, clorofila *b*, razão clorofila *a*:*b* e carotenoides dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB* submetidos aos tratamentos sol e sombra, aos 37 DAE. n=4. As barras indicam desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

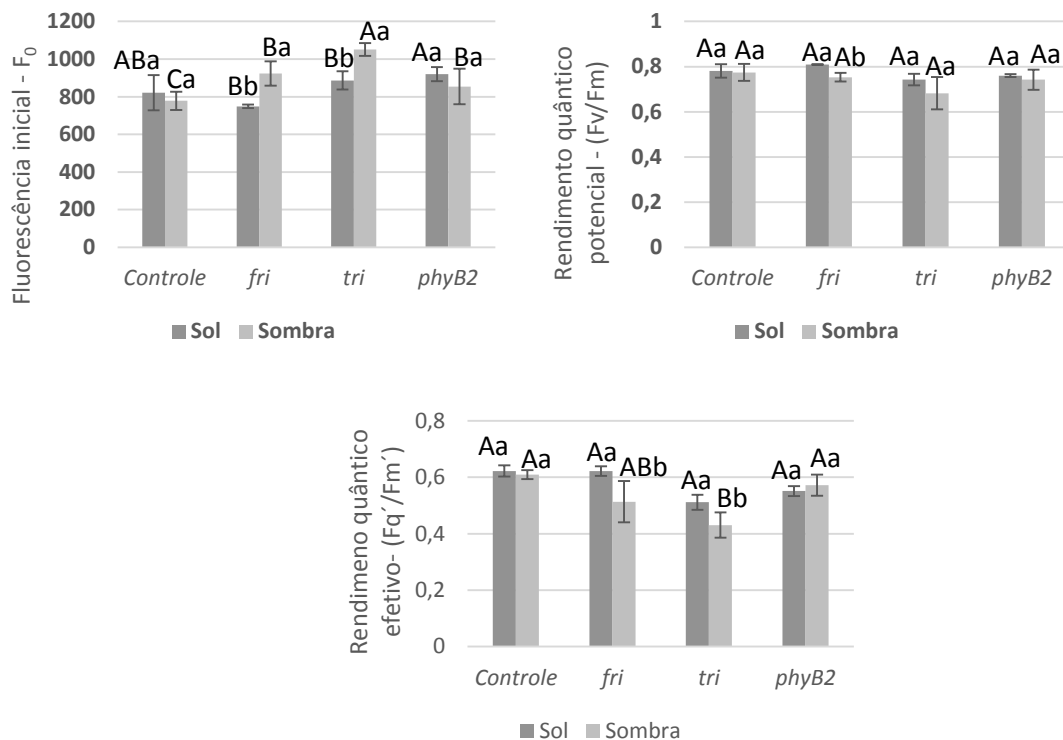


Figura 10: Fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico potencial (F_v/F_m) rendimento quântico efetivo (F_q'/F_m') dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* aos 55 DAE sob condições de sol e sombra. As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

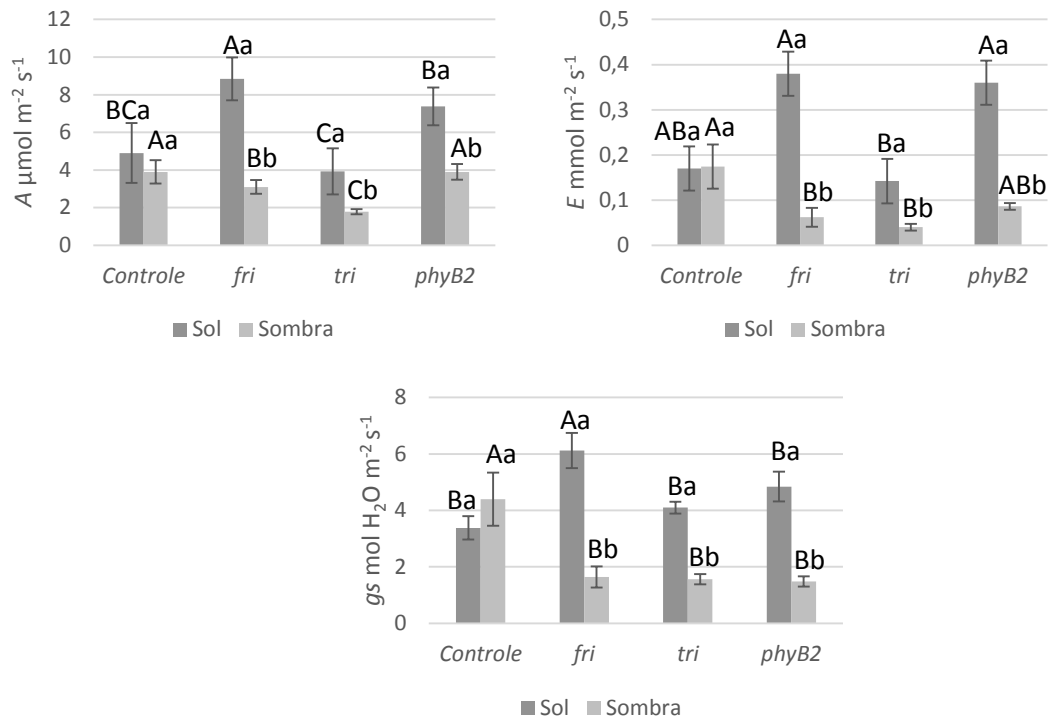


Figura 11: Taxas de fotossíntese (A em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aos 55 DAE das folhas dos genótipos selvagem, *fri*, *tri*, *phyB2* submetidos aos tratamentos sol e sombra. As barras indicam desvio padrão. ($n=5$) Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.

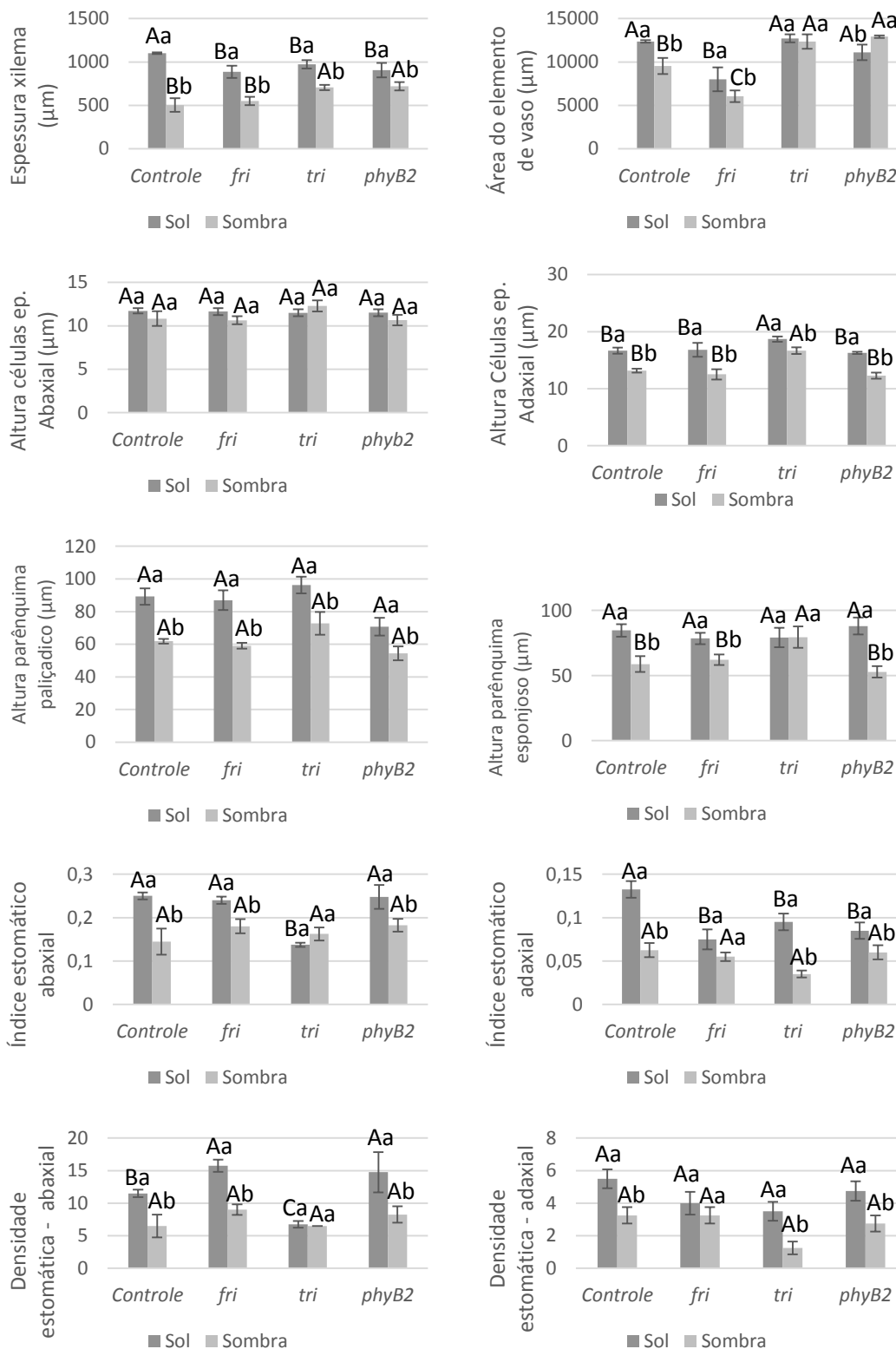


Figura 12: Área do elemento de vaso (μm^2), altura do xilema (μm); altura das células epidérmicas – face abaxial (μm); altura das células epidérmicas – face adaxial (μm); altura do parênquima paliçádico (μm); espeçura do parênquima esponjoso (μm); índice estomático – face abaxial; índice estomático – face adaxial; densidade estomática – face abaxial aos 37 DAE dos genótipos controle, *fri*, *tri*, *phyB2* submetidos ao tratamento sol e sombra. As barras indicam desvio padrão. (n=5) Letras diferentes indicam diferença

pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam comparação entre sol e sombra do mesmo genótipo. Letras maiúsculas indicam comparação entre genótipos dentro de um mesmo tratamento.