

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” – UNESP
Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS NO MUTANTE *aurea*
DE TOMATEIRO DEFICIENTE NA BIOSÍNTESE DOS
FITOCROMOS

Valéria Cury Galati
Bióloga

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” – UNESP
Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS NO MUTANTE *aurea* DE
TOMATEIRO DEFICIENTE NA BIOSÍNTESE DOS FITOCROMOS**

Valéria Cury Galati

Orientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

2016

Galati, Valéria Cury

G146r Respostas morfofisiológicas no mutante *aurea* de tomateiro deficiente na biossíntese dos fitocromos / Valéria Cury Galati. -- Jaboticabal, 2016
x, 53 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Rogério Falleiros Carvalho
Banca examinadora: Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo, Davi Rodrigo Rossatto
Bibliografia

1. Enxertia. 2. Fotoassimilados. 3. Fotorreceptores. 4. Relação fonte-dreno. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.541:635.64

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS NO MUTANTE *aurea* DE TOMATEIRO DEFICIENTE NA BIOSÍNTESE DOS FITOCROMOS

AUTORA: VALÉRIA CURY GALATI

ORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO

Diretoria / FCAT - UNESP / Dracena/SP

Participação por Videoconferência

Prof. Dr. DAVI RODRIGO ROSSATTO

Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 05 de agosto de 2016

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

VALÉRIA CURY GALATI: Filha de Cesare Galati e Nurd Nicolau Cury Galati, natural de Ribeirão Preto, São Paulo. No primeiro semestre de 2004 ingressou no curso de Licenciatura Plena em Biologia pelo Centro Universitário Barão de Mauá e concluiu no segundo semestre de 2007. Foi estagiária no ano de 2005 à 2007 na Casa da Ciência “Galileu Galilei” junto ao Bosque Municipal Fábio Barreto, pertencente à prefeitura municipal de Ribeirão Preto; no ano de 2008 à 2010 realizou estágio junto ao Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, na área de biologia e manejo de plantas daninhas no campus da UNESP de Jaboticabal e professora eventual na rede estadual de ensino no ano de 2008 à 2012; no ano de 2012 foi aprovada em concurso público, como assistente de suporte acadêmico I na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal, onde permanece até os dias de hoje . Em 2014 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia, pelo programa de Produção Vegetal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal, atuando na área de Fisiologia Vegetal.

“Aos outros, dou o direito de serem
como são. A mim, dou o dever de ser
cada dia melhor”

(Chico Xavier)

DEDICO

Aos meus pais Cesare e Nurd e a
minha irmã Vanessa por sempre me
apoiarem em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me mostrou que a vida tem vários caminhos e a escolha correta depende das grandes amizades, que sempre em primeiro lugar devemos agradecer antes de pedir.

Ao meu orientador o Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho por toda sua confiança, paciência, dedicação, ética e profissionalismo, pelos conselhos e pela amizade.

Aos meus pais Nurd e Cesare, pelo incentivo a nunca desistir das minhas metas. Por não deixarem de me apoiar em todos os momentos desta caminhada, com o auxílio, dedicação e carinho. E por serem à base de tudo para que eu me tornasse quem sou hoje.

A minha irmã Vanessa, há quem muito devo, por sua amizade verdadeira, pelo apoio, incentivo, confiança e auxílio na realização deste trabalho.

Aos funcionários Sônia e Jamil pelo apoio, amizade e pela ajuda na condução dos experimentos e análises.

Ao pessoal do laboratório de fisiologia vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária: Lucas, Leonardo, Carolina, Cássia, Flávio e Letícia pela ajuda e conselhos para a execução do experimento.

Aos meus colegas de trabalho: Sandra e Rodrigo pela ajuda e compreensão nos momentos em que eu precisei me ausentar por causa de experimentos e análises e por me aturarem em meus momentos mais tensos.

Ao programa de pós-graduação em produção vegetal pela oportunidade.

Enfim, a todos, àqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A cultura do tomateiro	3
2.2 Mutantes fotomorfológicos	3
2.3 Fotorreceptores e a luz no controle da relação fonte-dreno	5
2.4 A relação fonte-dreno	8
2.5 Enxertia em microtomateiros	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Material Vegetal	11
3.2. Local e época de desenvolvimento do trabalho	11
3.3. Propagação do material vegetal	12
3.4. Análise do crescimento	13
3.5. Análises bioquímicas	14
3.6. Análises anatômicas foliares (Experimento 1)	16
3.7. Análise nutricional (Experimento 1)	17
3.8. Crescimento de plântulas (Experimento 1)	18
3.9 Análise do órgão reprodutivo (Experimento 1 e 2)	18
3.10 Análise dos resultados	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS NO MUTANTE *aurea* DE TOMATEIRO DEFICIENTE NA BIOSÍNTESE DOS FITOCROMOS

RESUMO - Embora os fitocromos pareçam ser importantes fotorreceptores que modulam a relação entre a fonte e o dreno, muito ainda é necessário explorar visto que essas moléculas podem acumular e agir tanto na parte aérea quanto na raiz. Dessa forma, objetivou-se neste trabalho estudar a função dos fitocromos na relação fonte-dreno em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom ou MT) explorando fisiológica, bioquímica, nutricional e anatomicamente o mutante deficiente na biossíntese dos fitocromos (*aurea* ou *au*), bem como utilizando o método da enxertia entre o mutante *au* e o controle MT. Foram realizados dois experimentos, sendo que o primeiro experimento utilizou-se o mutante *au* e o controle MT. Para o segundo experimento, foram realizados seis tratamentos, constituídos pelas combinações entre a planta controle e o mutante, bem como as testemunhas sem enxertia (MT, MT/MT, *au*, *au/au*, MT/*au* e *au*/MT) a fim de serem analisadas as seguintes respostas: massa seca da raiz (MSR), comprimento (CR), área (AR), diâmetro (DR) e densidade das raízes (DE), massa seca da parte aérea (MSA), alongamento caulinar (AC), área foliar total (AF), peso e diâmetro dos frutos (PF e DF), teor de sólidos solúveis (SS), acúmulo de nutrientes (AN), análise de plântulas (AP), teores dos pigmentos, amido, carboidrato e análises anatômicas. No primeiro experimento, comparado ao MT, o mutante *au* aumentou a AC, AN na parte aérea, amido e espessura do mesofilo, entretanto, houve uma redução da MSR, CR, AR, AN na raiz, MSA, AF, carboidrato e pigmentos. No segundo experimento, com base no controle MT, houve redução em MSR, CR, DE, MSA e AF de *au*/MT, ao passo que em MT/*au* houve redução de MSR, CR, DE, MSA, AF e DF. Com base nas alterações do crescimento, bioquímicas, nutricionais e anatômicas da raiz e do caule de *au* observadas no primeiro experimento, bem como nas respostas observadas a partir das combinações de enxertia entre MT e o mutante, pode ser concluído que os fitocromos são parte do controle da partição de fotoassimilados entre a raiz e caule durante o crescimento do tomateiro.

Palavras-chave: enxertia, fotoassimilados, fotorreceptores, relação fonte-dreno

MORPHOPHYSIOLOGICAL RESPONSES IN THE PHYTOCHROME- DEFICIENTE *aurea* MUTANT OF TOMATO

ABSTRACT – Although the phytochrome seems to be an important photoreceptor to modulate the relation between the source and the drain, much is still necessary to explore since these molecules can accumulate and act both in the shoot and in the root. Thus, the aim of this work was to study the role of phytochrome in the source-drain relation on tomato plants (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom or MT) exploring physiological, biochemical, nutritional and anatomically the deficient mutant in the phytochrome biosynthesis (*aurea* or *au*), as well as using the method of grafting between the mutant *au* and the MT control. Two experiments were conducted, and in the first experiment it were used the *au* mutant and the MT control. For the second experiment, it were carried out six treatments, consisting of combinations of the control plant and the mutant, as well as the controls without grafting (MT, MT/MT, *au*, *au/au*, MT/*au* and *au*/MT) in order to analyze the following responses: dry mass of root (DMR), length (L), area (A), diameter (D) and density of roots (DE), dry mass of shoot (DMS), stem elongation (SE), total leaf area (LA), weight and diameter of fruits (W and FD), solid soluble content (SS), nutrient accumulation (NA), seedlings analysis (SA), pigment content, starch, carbohydrate and anatomical analysis. In the first experiment, compared to the MT, the *au* mutant increased the SE, NA in the shoot, starch and thickness of the mesophyll, however, there was a reduction in the DMR, L, A, NA at the root, DMS, LA, carbohydrates and pigments. In the second experiment, based on the MT control there was a reduction in the DMR, L, DE, DMS and LA of *Au*/MT, while in MT/*au* there was a decrease in the DMR, L, DE, DMS, LA and FD. Based on changes in the growth, biochemical, nutritional and anatomical of the roots and the *au* stem observed in the first experiment, as well as in the responses observed from the grafting combinations between the MT and the *au* mutant, it can be concluded that the phytochrome are part of the control of the photoassimilates partition between the root and the stem during the growth of tomato.

Keywords: grafting, photoassimilates photoreceptors, regarding source-drain

1. INTRODUÇÃO

Durante o desenvolvimento, os fotoassimilados produzidos nas folhas são, em parte, utilizados para o crescimento, sendo parcial e temporariamente armazenados ou exportados para outros órgãos da planta (VERKLEY; CHAELA, 1988). Os locais os quais os fotoassimilados são produzidos e utilizados denominam-se fonte e dreno, respectivamente (SHISHIDO et al., 1990).

Entretanto, a partição de fotoassimilados pode severamente ser alterada quando as plantas crescem em um ambiente altamente sombreado. Essa condição permite, por exemplo, que as plantas tornem-se estioladas para que possam atingir melhores condições luminosas. Dessa forma, o caule torna-se um importante dreno para fotoassimilados e, conseqüentemente, faz esgotar os recursos disponíveis para o desenvolvimento, por exemplo, das raízes, das folhas e da síntese de pigmentos (CASAL, 2013).

Durante o sombreamento, há uma seletiva absorção da radiação luminosa pelas folhas mais expostas ao ambiente luminoso, ou seja, folhas localizadas em estratos superiores da vegetação. Tais folhas absorvem fortemente os comprimentos da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (~400 e ~700 nm), em particular as regiões do azul e do vermelho (V; ~ 600 - 700 nm) e refletem predominantemente comprimentos de onda da radiação não fotossinteticamente ativa, tais como o verde e amarelo (~500 - 600), bem como comprimentos de onda mais longos, em especial o vermelho extremo (VE; ~700 - 800 nm) e infravermelho (MORELLI;IDA RUBERTI, 2002; VANDENBUSSCHE, et al., 2005; CARVALHO et al., 2010). Assim, plantas que necessitam de condições luminosas diferentes daquelas fornecidas no sombreamento, desencadeiam uma série de respostas compreendidas como síndrome de evitação à sombra (SES). A redução de V/VE que ocorre durante o sombreamento é reconhecidamente um importante sinal que controla a SES. Entretanto, é necessário que V/VE seja percebido por fotorreceptores especializados, denominados fitocromos, os quais são parte de uma complexa transdução de sinal para que SES seja desencadeada (MARTÍNEZ-GARCÍA et al., 2010).

Sendo os fitocromos proteínas diméricas (~130 KDa) ligadas covalentemente a uma fitocromobilina, um tetrapirrol linear de cadeia aberta que age como cromóforo (MURAMOTO et al., 2005), os mesmos apresentam picos de absorção na faixa do vermelho (V; ~ 660 nm) e vermelho-extremo (VE; ~ 730 nm) do espectro luminoso (SANCAR, 2003; CARVALHO et al., 2011). Ao absorver o V, o fitocromo é convertido à forma ativa, e revertido à forma inativa na presença do VE.

É evidente que a transdução do sinal luminoso na parte aérea resulta em mudanças no órgão radicular, e tem sido mostrado que esse evento pode ter como fator importante os comprimentos de onda de V e VE (SUN et al., 2005). Entretanto, embora o crescimento das plantas possa ser desencadeada pelos fitocromos na folha, é bem conhecido que esses fotorreceptores possam ser acumulados na raiz e controlar o crescimento desse órgão. De fato, tem sido evidente o forte controle do crescimento das raízes pelos fitocromos em *Arabidopsis thaliana* (COSTIGAN et al., 2011; RAYA-GONZALEZ, et al., 2014). Contudo, muito ainda é necessário conhecer se os fitocromos acumulados na raiz são parte dos mecanismos de controle da relação fonte-dreno que envolve a raiz e parte aérea.

Para melhor compreender os fatores envolvidos na sinalização entre a raiz e parte aérea, a enxertia tem sido uma técnica interessante visto que, as modificações moleculares e/ou bioquímicas, induzidas endógena ou exogenamente, no porta-enxerto possam resultar em modificações na parte aérea, e vice-versa (GRATÃO ET al., 2015).

Assim, para estudar a sinalização da luz, especialmente àquela dependente dos fitocromos, no controle da partição de fotoassimilados, torna-se interessante associar a técnica de enxertia com mutantes fotomorfogênicos. Nesse sentido, objetivou-se no presente trabalho estudar a função dos fitocromos na relação fonte-dreno em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom ou MT) explorando fisiológica, bioquímica, nutricional e anatomicamente um mutante deficiente na biossíntese dos fitocromos, bem como utilizando o método da enxertia entre o mutante e o controle MT.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no mundo e apresentou um volume comercializado, no CEAGESP, de 180.148 toneladas de janeiro a julho de 2015. Dentre os produtores mundiais, destaca-se a China que no ano de 2013 obteve uma produção de, aproximadamente, 51 milhões de toneladas em uma área de 984 hectares. O maior exportador e importador de tomate no ano de 2014 foi o México e os Estados Unidos, respectivamente (AGRIANUAL, 2016).

O estado de Goiás é o maior produtor de tomate do país e deve participar com 21,4% do total a ser colhido em 2016, teve seus dados de produção reavaliados pelo GCEA/GO (IBGE, 2016).

O tomateiro é oriundo da zona andina da América do Sul, mas foi domesticado no México e introduzido na Europa em 1544. Mais tarde, disseminou-se da Europa para a Ásia meridional e oriental, África e Oriente Médio, e posteriormente, o tomateiro silvestre foi distribuído para outras partes da América do Sul e do México (NAIKA et al., 2006).

É uma planta anual, com ciclo relativamente curto e pode atingir uma altura de mais de dois metros. Contudo, na América do Sul, pode-se colher frutos das mesmas plantas durante vários anos consecutivos. A primeira colheita pode-se realizar de 45-55 dias após a inflorescência, ou 90-120 dias após a sementeira. A forma dos frutos difere conforme a cultivar (variedade cultivada) e a cor varia entre amarelo e vermelho (FILGUEIRA, 2005).

2.2. Mutantes fotomorfogénicos

A *Arabidopsis thaliana* é uma planta modelo utilizada em pesquisas científicas por possuir várias características consideradas ideais como pequeno tamanho, curto período de tempo entre as gerações, alta acessibilidade, fácil manipulação, ampla conservação de mecanismos e genoma totalmente sequenciado (MEISSNER et al.,

1997). No entanto, o seu uso vem sendo rapidamente substituído pelo tomateiro, uma ferramenta muito utilizada em pesquisas relacionadas à fotorreceptores por meio de microtomateiros fitocromo mutantes. Esses fotorreceptores estão relacionados com diversos processos como a germinação de sementes, o fototropismo, os ritmos circadianos e a floração, sendo intermediários bioquímicos entre a percepção da luz e o desenvolvimento da planta (CASTILLON et al., 2007).

A pesquisa dos mutantes denominados fotomorfogênicos pode auxiliar se uma resposta ou processo fisiológico é mediada por fitocromo. Em tomateiros, o mutante *au* é deficiente no pool total de fitocromos, apresenta como características plantas alongadas e cloróticas mesmo na presença da luz natural e lesão no gene que codifica para a fitocromobilina sintase, uma enzima da biossíntese do cromóforo do fitocromo (MURAMOTO et al. 2005).

O MT é determinado por ser uma cultivar de um tomateiro anão, originalmente criados para fins de jardinagem doméstica (SCOTT;HARBAUGH 1989), difere das cultivares de tomateiro padrão, principalmente por dois genes recessivos, que conferem o fenótipo anão (MEISSNER et al., 1997). O MT compartilha algumas características com *Arabidopsis* que o tornam bem sucedido como modelo de sistema, tais como o tamanho pequeno (até 1.357 plantas m⁻²), o ciclo de vida curto (70-90 dias após a semeadura até o amadurecimento dos frutos), e genoma pequeno (950 Mb). Esta cultivar apresenta um potencial único como um sistema modelo para estudar se uma planta é susceptível a resistência à doença. Devido ao tamanho razoável de frutos de MT em comparação com o número de sementes de *Arabidopsis*, o MT tem a vantagem de ser um sistema modelo para o estudo da característica de rendimento e da genética molecular através de técnicas como a mutagênese e a marcação genética (MEISSNER et al., 1997; MATHEWS et al., 2003).

O mutante *au* de tomateiro tem sido objeto de estudos múltiplos, foi isolado no processo de germinação de planta e em resposta à giberelina houve um alongamento do hipocótilo, presença de folhas verde-amareladas, redução dos níveis de antocianinas, e desenvolvimento defeituoso do cloroplasto (KOORNNEEF et al, 1985).

2.3. Fotorreceptores e a luz no controle da relação fonte-dreno

Análises genéticas moleculares em mutantes de *Arabidopsis*, identificaram um conjunto de fotorreceptores e moléculas de sinalização envolvida na detecção da resposta ao ambiente de luz (HOLM et al 2002;. HUQ;CODORNIZ, 2002; CERDAN;CHORY, 2003;. CHEN et al., 2004). Esta caracterização genética molecular pode afetar a expressão de respostas na densidade de plantas em populações naturais, embora, seja bom ressaltar que os fenótipos expressos provavelmente refletem os efeitos de vários parâmetros ambientais, incluindo não só os sinais foliares de sombra e irradiância, mas também outros fatores abióticos, como temperatura.

A luz, além de um recurso de energia para a fotossíntese, também fornece informações importantes para as plantas a respeito do ambiente em que elas se encontram. A qualidade, a quantidade e a direção da luz incidente são traduzidas através dos fotorreceptores (FRANKLIN et al., 2005). Estes receptores convertem os sinais luminosos do ambiente em sinais bioquímicos que, por meio de diversas rotas metabólicas, resultarão em mudanças moleculares e fisiológicas capazes de modular o crescimento e desenvolvimento do vegetal, em um processo denominado fotomorfogênese.

Fitocromos, criptocromos e fototropinas são fotorreceptores capazes de captar os sinais do ambiente que fornecem informações e controle do crescimento e desenvolvimento espacial e temporal (CHEN et al., 2004). O fitocromo regula muitas respostas fisiológicas e de desenvolvimento, tais como os ritmos circadianos, o estiolamento e SES (NEFF et al., 2000).

A ação do fitocromo pode ser estudada através de plantas que apresentam mutações específicas em relação à biossíntese ou à transdução do sinal desencadeada por este fotorreceptor. A pesquisa dos mutantes, denominados fotomorfogénéticos, pode, por sua vez, auxiliar a determinar se uma resposta ou processo fisiológico em estudo é mediada por fitocromo.

O adensamento de plantas gera um ambiente sombreado e permite que haja uma alteração no crescimento, determinada principalmente pelas mudanças na relação fonte e dreno, tornando o caule um dreno para fotoassimilados e,

consequentemente, diminui os recursos disponíveis para o desenvolvimento das raízes, expansão foliar e síntese de pigmentos (CASAL, 2013).

No sombreamento ocorre uma seletiva absorção da radiação pelas folhas mais expostas ao ambiente luminoso. Essas folhas absorvem os comprimentos de onda do ultravioleta (UV) B (~280 - 320 nm), UVA (~320 - 400) e da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (~400 e ~700 nm), em particular as regiões do azul e do vermelho (V; ~ 600 - 700 nm) do espectro da luz, e refletem predominantemente comprimentos de onda da radiação não fotossinteticamente ativa, tais como o verde e o amarelo (~500 - 600) e comprimentos de onda mais longos, como exemplos, o vermelho extremo (VE; ~700 - 800 nm) e infravermelho (MORELLI;IDA RUBERTI, 2002; VANDENBUSSCHE et al., 2005; CARVALHO et al., 2010).

Os fitocromos são proteínas diméricas (~130 KDa) ligadas covalentemente a uma fitocromobilina, um tetrapirrol linear de cadeia aberta que age como cromóforo, apresentando picos de absorção em e V e VE do espectro luminoso. O aumento de V/VE converte a forma inativa na forma ativa, e, de modo contrário, a redução de V/VE reverte a forma ativa à forma inativa, estabelecendo assim um fotoequilíbrio entre as formas do fitocromo. Em outras palavras, uma vez que as quantidades relativas de V ou VE são aumentadas, as formas ativas e inativas dos fitocromos são acumuladas (BAE;CHOI, 2008).

As demonstrações de como e quais fitocromos estão envolvidos na SES ocorreram principalmente por meio do uso de mutantes defectivos na biossíntese do fitocromo. De fato, tem sido mostrado que mutantes deficientes na produção da apoproteína de phyA, como em *Arabidopsis* e tomateiro, apresentam exagerado alongamento do hipocótilo em condição de baixo V/VE (NAGATANI et al., 1993; PARKS;QUAIL, 1993; WHITELAM et al., 1993; VAN TUINEN et al., 1995).

A quantidade de folhas diminui à relação entre o V e o VE da luz, isto reduz a atividade de fitocromos estáveis à luz, tal como o phyB, mas aumenta a atividade de phyA (YANOVSKY;CASAL;WHITELAM,1995). A resposta do hipocótilo à relação V/VE representa um equilíbrio entre essas ações. Os fotossistemas I e II podem estender as suas atividades para a região VE do espectro (THAPPER et al., 2009). Este último pode ser insignificante sob um comprimento de onda entre 400 e 700 nm, mas que poderia ser importante para as respostas à sombra quando a

proporção de luz VE é elevada (THAPPER et al., 2009). Como diferentes fitocromos podem ter efeitos opostos, a única maneira de testar a contribuição real de reações fotossintéticas para a resposta de crescimento para a luz VE é usar plantas sem fitocromo.

Estão sendo testadas associações quantitativas com a interação do fitocromo no fator 4 (PIF4), que regula não só respostas de alongamento do hipocótilo à simulação de sombreamento foliar (LORRAIN et al., 2008), mas também respostas na floração e em alta temperatura que imitam respostas induzidas pela sombra foliar (KOINI et al., 2009).

Os fitocromos controlam uma grande variedade de respostas moleculares, celulares e de desenvolvimento, é claramente importante para caracterizar a sua função individual ou comum. Várias plantas com mutações relacionadas ao phy foram isolados (KENDRICK;NAGATANI, 1991). Este mutante, representado pelo tomateiro *au*, é um bom exemplo para caracterizar fitocromos, e pode revelar-se importante na análise das vias de transdução de sinal associadas com fitocromos.

A regulação genética da fotomorfogênese difere entre a lâmina e o pecíolo foliar. O fitocromo controla a expansão de lâminas foliares e o alongamento de pecíolos em muitas espécies (MCLAREN;SMITH, 1978; DUKE;LANE, 1984). Quando as plantas de *Arabidopsis* são irradiadas com luz VE no final do fotoperíodo, que apresentam SES formam pecíolos alongados e lâminas de folha não expandidas (GOTO et al., 1991). Esta resposta sugere que o desenvolvimento da lâmina e do pecíolo da folha é afetado de forma diferente por um mecanismo mediado por fitocromo na regulação do crescimento em *Arabidopsis*. Tais mutantes possuem uma mutação no gene PHYB, resultam em pecíolos mais longos (GOTO et al., 1991; NAGATANI et al., 1993; TSUKAYA, 1995; PENG;HARBERD, 1997; DEVLIN et al., 1999), portanto, a percepção PHYB mediada por luz parece ser um fator de controle da SES.

O mutante triplo phyA, phyB e phyC do arroz apresenta inibição do crescimento do coleótilo, a síntese detectável de clorofila, e as mudanças na expressão gênica sob luz vermelha contínua, indicando que em gramíneas, os fitocromos são os únicos fotorreceptores para luz V e VE durante o estiolamento (TAKANO et al., 2009).

Evidências de que as angiospermas possuem várias espécies de fitocromos codificados por uma pequena família de genes foram verificadas inicialmente em estudos com *Arabidopsis*. Cinco genes do fitocromo foram isolados nesta espécie: *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE* os quais codificam para as apoproteínas *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE* (SHARROCK;QUAIL, 1989). Tais apoproteínas, após se ligarem ao cromóforo, formam os fitocromos *phyA*, *phyB*, *phyC*, *phyD* e *phyE*. Atualmente, a caracterização molecular dos fitocromos tem sido feita para várias espécies, incluindo o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), uma das hortaliças mais importantes do mundo. Nessa espécie também foram encontrados cinco genes para as apoproteínas *PHYA*, *PHYB1*, *PHYB2*, *PHYE* e *PHYF* (PRATT et al., 1997).

2.4. A relação fonte-dreno

No desenvolvimento das plantas, os fotoassimilados produzidos nas folhas e são, em parte, utilizados para o crescimento, sendo parcial e temporariamente armazenados sob a forma de amido e açúcares. Além disso, são exportados para outros órgãos da planta (VERKLEY;CHAELA, 1988). Os locais os quais os fotoassimilados são produzidos e utilizados denominam-se fonte e dreno, respectivamente (SHISHIDO et al., 1990).

A planta de tomateiro é composta por diversas unidades de fonte-dreno, sendo cada parte constituída de órgãos vegetativos e reprodutivos. Cada unidade fonte-dreno, quando desenvolvida, é auto-suficiente em fotoassimilados ou possui um potencial fotossintético maior que o necessário (PELUZIO, et al. 1999).

O tomateiro serviu durante muito tempo como um sistema modelo para a genética de plantas, desenvolvimento, patologia e fisiologia, resultando no acúmulo de informações substanciais sobre sua biologia. O tomateiro foi usado como um bom sistema para isolar mutantes que utilizam agentes químicos ou físicos e isolar genes através de processos de clonagem (PEREIRA, 2000).

Nas plantas, as vias de sinalização evoluíram para interligar as vias sensoriais e de desenvolvimento. Estes canais moleculares coordenam o desenvolvimento no ambiente natural onde os parâmetros externos estão em fluxo constante. A

comunicação entre parte aérea e a radicular é particularmente importante, uma vez que estes sinais influenciam o crescimento e o desenvolvimento de estruturas aéreas e subterrâneas. As principais causas para esta sinalização entre os órgãos são de disponibilidade de nutrientes, de água, de estresse e de temperatura. No entanto, descobertas recentes têm demonstrado que a luz influencia o curso de desenvolvimento da raiz, proporcionando a possibilidade intrigante de que atua através de um sinal de longa distância (SALISBURY et al., 2007).

Há evidências de atividade do fitocromo dentro do sistema radicular de *Arabidopsis*. As funções dos fitocromos foram definidas no controle do fototropismo e do gravitropismo em raízes (CORRELL et al., 2003; KISS et al., 2003; RUPPEL et al., 2001). Reed et al. (1993) demonstraram que o phyB é importante no alongamento da raiz. Mais recentemente, fitocromos A, B e D têm sido mostrados para controlar o alongamento da raiz principal mediado pela luz vermelha (CORRELL;KISS, 2005).

Correll e Kiss (2005) demonstraram que quando diretamente irradiado com luz vermelha, o alongamento da raiz é inibido. Isto sugere que os fitocromos podem atuar localmente dentro do sistema de radicular para controlar o seu crescimento.

Embora o papel do fitocromo na parte aérea tenha sido bem caracterizado, no desenvolvimento da raiz tem recebido pouca atenção. As análises dos fitocromos individuais demonstraram que os fitocromos participam na regulação da produção de raízes laterais. O mutante em phyD apresentou-se ligeiramente aumentado na produção de raízes laterais e os mutantes em phyA, phyB e phyE mostraram redução na produção de raízes laterais. Os mutantes deficientes em phyA, além de phyB, também exibem uma redução da taxa de crescimento de raízes laterais. Isso indica que phyA, phyB e phyE promovem a produção de raízes laterais, o phyD parece antagonizar esta ação. Também foi demonstrado que a redução da atividade do fitocromo prejudica o gravitropismo nas raízes primárias e laterais (CORRELL;KISS, 2005). Assim, os fitocromos parecem desempenhar um papel central no controle do desenvolvimento de raiz.

Trabalhos anteriores demonstraram que a luz é conduzida axialmente a partir do broto para a raiz através do tecido vascular, com comprimentos de onda na gama de 710-940 nm, sendo transmitido com a maior eficiência (SUN et al., 2005). Estes

resultados sugerem que, em algumas espécies, uma parte da luz pode penetrar no sistema radicular para desencadear a ação do fitocromo.

Muitos processos fisiológicos e de desenvolvimento em plantas, incluindo o crescimento da folha, são influenciados por açúcares fotoassimilados que atuam como recursos e/ou sinais (MOORE et al., 2003). A detecção do açúcar afeta o tamanho das folhas em *Arabidopsis* (LEON; SHEEN 2003, MOORE et al., 2003), sugerindo que os açúcares têm funções importantes no crescimento da folha.

2.5. Enxertia em microtomateiros

Um dos mecanismos pelos quais as plantas ajustam o desbalanço dos recursos externos/exógenos é pela alocação de energia e fotoassimilados para os órgãos que estão envolvidos na obtenção de recursos nutricionais (EPSTEIN; BLOOM, 2006), para tanto, um importante instrumento de estudo seria associar o mutante com a planta controle como o MT por meio do método da enxertia, combinando em uma mesma planta parte aérea e sistema radicular com diferentes constituições genéticas para garantir melhor avaliação fisiológica (DODD, 2005).

Para se obter sucesso na enxertia, é necessário que haja coincidência entre os tecidos próximos ao câmbio, que gera o calo ou cicatriz. Não existe nenhum método capaz de prever o resultado de uma enxertia, entretanto, em linhas gerais, pode-se dizer que quanto maior a afinidade botânica entre as espécies, maior a probabilidade de sobrevivência do enxerto (PEIL, 2003).

Dentre os métodos de enxertia o mais utilizado, no caso de microtomateiro, é a garfagem pelo método da fenda cheia, que consiste na realização de um corte transversal do porta-enxerto quando há aparição da primeira folha verdadeira. No enxerto, é feito o corte do tipo cunha quando apresenta folhas cotiledonares meio abertas, o enxerto é colocado na fenda do porta-enxerto e preso com um grampo de enxertia próprio para solanáceas (FILGUEIRA, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Vegetal

Foram usados dois genótipos de tomateiro, sendo um o mutante *au*, (Figura 1 e Tabela 1) e outras plantas de MT ausentes da deficiência.

Tabela 1. Mutante *au* de tomateiro presente na cultivar MT.

Mutante	Efeito/função gênica	Referência
<i>aurea (au)</i>	Plantas alongadas e cloróticas mesmo na presença da luz natural. Lesão no gene que codifica para a fitocromobilina sintase, uma enzima da biossíntese do cromóforo do fitocromo	Muramoto et al. 2005

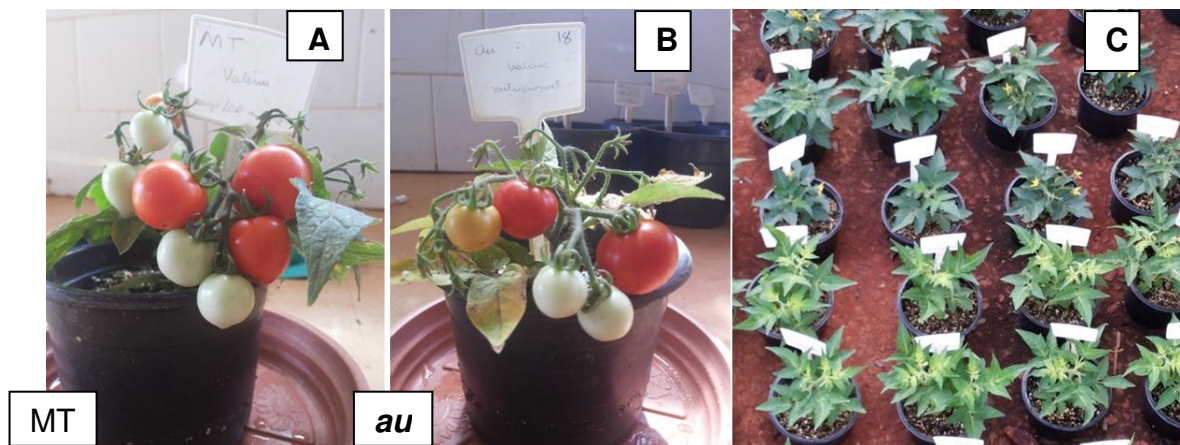


Figura 1 – Representação dos genótipos de microtomateiros MT (A), *au* (B) e comparação entre MT e *au* (C).

3.2. Local e época de desenvolvimento do trabalho

Experimento 1

O trabalho foi desenvolvido no período de 18 de maio de 2014 à 08 de Agosto de 2014 para as análises de crescimento sem enxertia no Departamento de "Biologia Aplicada à Agropecuária" (DBAA) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – Campus de Jaboticabal.

Experimento 2

O trabalho foi desenvolvido no período de 18 de maio de 2014 à 08 de Agosto de 2014 para as análises de crescimento, e de 29 de Agosto de 2015 à 20 de Novembro de 2015 para as análises com frutos. A obtenção das mudas foi realizada no Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Jaboticabal. Posteriormente, as mudas foram transportadas para o (DBAA), nesta mesma instituição, onde foram acondicionadas em casa de vegetação com 50% de sombreamento.

3.3. Propagação do material vegetal

Experimento 1

Para propagação dos genótipos, no interior de uma casa de vegetação, sementes foram postas para germinar em bandejas contendo uma mistura na proporção de 1:1 de substrato comercial Bioplant[®] com vermiculita expandida, suplementado com 1g L⁻¹ de NPK 10:10:10 e 4 g L⁻¹ de calcário. Após 10 dias, nas mesmas condições de substrato, as plantas foram transferidas para vasos com capacidade para 150 mL, nos quais permaneceram durante 90 dias a fim de colher as sementes. As plantas cresceram em casa de vegetação com 50% de sombreamento. Foram utilizadas quatro repetições e dois tratamentos MT e *au*, em delineamento inteiramente casualizado.

Experimento 2

Para a produção das mudas, utilizou-se como substrato uma mistura de Bioplant[®] e vermiculita, na proporção 1:1 (v:v). As mudas do porta-enxerto e do enxerto foram produzidas em bandejas plásticas com semeadura direta.

A enxertia foi realizada em mudas com 15 dias após a semeadura (DAS) pelo método da fenda cheia. Com o auxílio de um bisturi, foram feitos cortes (fendas) no enxerto e no porta-enxerto, os quais foram unidos por meio de grampos de enxertia específicos para solanáceas. As plantas enxertadas foram colocadas em câmara úmida, do tipo “flouting”, onde permaneceram por, aproximadamente, 15 dias para a completa cicatrização da região enxertada. Foram realizados seis tratamentos

provenientes das combinações entre MT e *au* (MT/MT, *au/au*, MT/*au*, *au*/MT, além de MT e *au*) e três repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

3.4. Análise do crescimento

3.4.1. Alongamento e espessura do caule (Experimento 1 e 2)

Com uso de um paquímetro digital, o comprimento e a espessura do terceiro entrenó foram medidos, para a planta enxertada, estas medidas foram realizadas à partir do colo da planta.

3.4.2. Acúmulo de biomassa seca do caule, folha e raiz (Experimento 1 e 2)

Para obtenção da massa seca, o material foi mantido em saco de papel e levado à estufa com renovação forçada de ar a 55 °C por 96 horas. Posteriormente, o material foi pesado utilizando-se uma balança analítica digital (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001g.

3.4.3. Índice de ramificação caulinar (Experimento 1 e 2)

O índice de ramificação foi calculado considerando a proporção entre a soma do comprimento das ramificações laterais e o comprimento do eixo principal, segundo Morris et al. (2001).

3.4.4. Área foliar (Experimento 1 e 2)

A área foliar total foi obtida através da digitalização das folhas e subsequente análise das imagens por meio do sistema de análise de imagem Delta - T Devices LTD.

3.4.5. Comprimento e densidade radicular (Experimento 1 e 2)

Para determinação do comprimento, da área e da densidade da raiz foi utilizado o sistema de análise de imagem Delta - T Devices LTD. Para tanto, o sistema radicular permaneceu em solução de azul de metileno por, aproximadamente, 2 minutos. Em seguida, as raízes foram dispostas em bandeja com água destilada para o início das leituras de imagem utilizando-se um

digitalizador Hewlett Packard modelo 5C. A imagem de cada sistema radicular foi analisada pelo software Delta-T Scan.

3.5. Análises bioquímicas

3.5.1. Teores foliares de clorofilas e carotenóides (Experimento 1)

A partir da terceira folha, discos foram retirados com um furador e colocados no interior de tubos eppendorf acrescentados com 1,5 mL de acetona. Em seguida, em condições de penumbra, os tubos foram envolvidos com papel alumínio para permanecerem por 24 horas sob agitação em baixa temperatura. O processo de extração foi realizado em triplicatas. Após a agitação, os tecidos foliares foram retirados e a solução de extração contendo os pigmentos levada para leitura nos seguintes comprimentos de onda: Clorofila a - 661,6 nm; Clorofila b - 644,8 nm e Carotenóides (caroteno [c]+ xantofilas [x]) - 470 nm, e para o cálculo da concentração de clorofilas e carotenóides foram utilizados as seguintes fórmulas (LICHTENTHALER, 1987): $Ca = 11,24 A_{661,6} - 2,04 A_{644,8}$; $Cb = 20,13 A_{644,8} - 4,19 A_{661,6}$; $Ca+b = 7,05 A_{661,6} + 18,09 A_{644,8}$ e $Cc+x = (1000 A_{470} - 1,90Ca - 63,14Cb)/214$. O conteúdo de clorofilas e carotenóides dos tecidos foi expresso em μg do pigmento pela área do disco cotiledonar ($\mu\text{g cm}^{-2}$).

3.5.2. Teores de carboidratos totais não-estruturais (Experimento 1)

Os teores de carboidratos totais não-estruturais (CTNE) foram determinados nas folhas, pelo método da antrona, adaptados de Passos (1996), descrito a seguir:

3.5.2.1. Extração alcoólica de açúcares (carboidratos solúveis) (Experimento 1)

Foram pesadas amostras de 0,25 grama de material fresco que posteriormente foram mascaradas em nitrogênio líquido e transferidas para tubo de centrífuga ao qual foi adicionado 10 mL de etanol 95%, e centrifugou-se a 4.000 g por 5min. O sobrenadante foi retirado e guardado em um vidro devidamente identificado. Ao sedimento restante foi adicionado 7,5 mL de etanol 80%, o qual foi colocado em água fervente até que o etanol iniciasse o processo de ebulição. O material foi novamente centrifugado (4.000 g por 5 min.), o sobrenadante retirado, e

adicionado ao sobrenadante anterior. Estes sobrenadantes foram colocados em uma proveta onde anotou-se o volume final (V1), do qual foi retirado uma alíquota de 0,25 mL com pipetador automático, e colocou-se em tubos de ensaio. A este material adicionou-se 5 mL da solução de antrona (45 mL de ácido sulfúrico, 5 mL de água destilada e 0,1 g de antrona), e aqueceu-se em água fervente por 10min. Os tubos foram resfriados em gelo, e então transferidos para temperatura de ambiente, para posterior determinação dos açúcares livres em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm. O sedimento foi colocado em placas de Petri para a secagem, e determinação do amido.

3.5.2.2. Extração do amido (Experimento 1)

Os sedimentos da extração com etanol, após a secagem, foram transferidos para tubos de ensaio, aos quais adicionou-se 5 mL de solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹, e centrifugou-se a 1.000 g por 15min. O sobrenadante foi transferido para um recipiente e seu volume (V2) foi anotado. Uma alíquota de 0,1 mL foi retirada deste sobrenadante e colocada em tubos de ensaio para adição da solução de antrona e posterior determinação do amido (AM) em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm.

Os valores de absorvância obtidos no espectrofotômetro (y) foram substituídos na curva de calibração (obtida com várias concentrações de glicose), onde encontraram-se os valores de concentração de CHO solúveis em 0,25 mL e 0,1 mL de alíquota para açúcares solúveis e amido, respectivamente, e 0,5 g de amostra.

$$x = (y - 0,0228) / 0,0065$$

Onde:

x é o valor da concentração de açúcares livres e amido das amostras nos volumes das alíquotas utilizadas, e y são os valores de absorvância. Os valores encontrados na fórmula foram recalculados por regra de três para o volume final (V1 + V2) obtido durante as extrações para se obter os resultados em microgramas de açúcares livres ou amido por 0,25 g de massa seca. Foram calculadas

separadamente as concentrações de amido e açúcares livres. Por regra de três, os valores foram transformados para 1 g de massa seca, tendo-se como resultados finais a concentração de CHO ou açúcares solúveis e amido nas folhas (mg g^{-1} de MS). Os teores de CHO totais não-estruturais das folhas (mg g^{-1} de MS) foram determinados pela soma dos resultados encontrados para açúcares livres e amido nesta parte da planta.

3.6. Análises Anatômicas foliares (Experimento 1)

Foram retirados, de cada planta, um folíolo da terceira folha, totalizando 4 folíolos para MT e quatro para *au*. Em cada folha, na parte central do limbo, foi extraído um fragmento contendo aproximadamente 1 cm de comprimento. As amostras foram enviadas para o Laboratório de Morfofisiologia Vegetal e Forragicultura da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Experimental de Dracena – SP.

Todo material coletado foi fixado em solução F.A.A. 70 (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 70% na proporção de 1,0:1,0:18,0 – V/V). Após 24 horas, foram lavados em etanol 70% e armazenados em etanol 70% até a data de realização das análises, segundo Kraus e Arduim (1997).

Todos os fragmentos de tecidos vegetais receberam os procedimentos pertinentes à desidratação, diafanização, inclusão e emblocagem. Com auxílio de um micrótomo de mesa Leica contendo lâmina de aço, foram realizadas secções transversais de 8 μm em cada fragmento foliar emblocado. Para a montagem das lâminas histológicas, foram escolhidas as primeiras secções transversais que apresentaram o material mais preservado, ou seja, sem danos ou injúrias provocados pelo corte nos tecidos vegetais. Todas as secções escolhidas foram fixadas com adesivo de Mayer, coradas com safranina a 1% e montadas em lâminas e lamínulas com adesivo Entellan. Todas as lâminas foram observadas em microscópio óptico Leica, com uma câmera acoplada para realização das fotografias dos cortes. As fotos foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos por meio do programa de análise de imagens QWin, calibrado com régua microscópica nos mesmos aumentos das fotografias, segundo metodologia descrita por Pereira et al., (2008).

Nos cortes transversais foram observadas na região da nervura central das folhas as seguintes características morfoanatômicas: Espessura da epiderme da face inferior ou abaxial (EAB); Espessura da epiderme da face superior ou adaxial (EAD); Espessura do mesofilo (MF); Diâmetro dos vasos floemáticos (DF); e Diâmetro dos vasos xilemáticos (DX). Para todas as características foram realizadas 3 (três) medições por lâmina, totalizando 12 repetições por genótipo (MT e *au*).

3.7. Análise nutricional (Experimento 1)

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, localizada no Departamento de Solos e Adubos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, por meio de sistema hidropônico de cultivo, durante 42 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 7, com cinco repetições, sendo dois genótipos de tomateiro (mutante *au* e a cultivar MT).

Cada unidade experimental constou de um vaso de polipropileno com tampa, medindo 48 cm de comprimento x 16 cm de largura x 17 cm de altura, contendo 8L de solução nutritiva e seis plantas de tomateiro espaçadas em 0,15 m entre linhas e 0,08 m entre plantas. Utilizou-se isopor para fixar as plantas nos vasos.

A sementeira foi realizada em bandejas de polipropileno para mudas, contendo 288 células, em substrato contendo uma mistura de substrato comercial Bioplant[®] e vermiculita expandida, na proporção de 1:1, irrigadas diariamente. Quando as plantas de tomateiro apresentaram dois pares de folhas desenvolvidas, aos 21 dias após a sementeira, realizou-se o transplante para o sistema hidropônico.

De um a sete dias após o transplante, as plantas foram cultivadas em solução nutritiva proposta por Hoagland e Arnon (1950), contendo todos os nutrientes. Nesta solução foi utilizado como fonte de ferro o Fe-EDDHMA, nos primeiros 7 dias foi realizada uma diluição de 25% da concentração recomendada, de 7 a 14 dias a solução apresentava uma diluição de 50% de ferro, e após 15 dias passou a conter 100% da dose recomendada de ferro, sendo que a solução foi trocada semanalmente até o final do experimento (42 dias). Utilizou-se água deionizada, e cada vaso foi mantido em arejamento contínuo por meio do sistema de compressão

de ar. Diariamente foram aferidos os valores do pH, mantidos entre 5,8 e 6,0 por meio de soluções de HCl ou NaOH, ambos na concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Logo após esta etapa, todas as plantas foram coletadas, lavadas e separadas em parte aérea e raízes, e acondicionadas em sacos de papel. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar ($65 \text{ }^\circ\text{C}$) até atingir massa constante, com duração de, aproximadamente, 72 h. Após a secagem, obtiveram-se as massas da matéria seca das raízes e da parte aérea por meio de balança de precisão ($0,0001 \text{ g}$). Em seguida, o material vegetal foi moído em moinho tipo Willey para a determinação dos teores de macronutrientes, conforme a metodologia proposta por Bataglia et al. (1983). A partir dos teores dos nutrientes e das massas da matéria seca, calculou-se o acúmulo de N, P, K, Ca e Mg nas raízes e na parte aérea das plantas.

Os dados foram submetidos à análise de variância, seguindo-se da aplicação do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparação das médias entre os tratamentos, utilizando-se do software SAS (SAS Institute, 2002).

3.8. Crescimento de plântulas (Experimento 1)

Em caixas plásticas com capacidade para 250 mL e medidas (11x11x3,5 cm), foi posta uma folha de papel germitest com 30 sementes, e para manter a umidade do papel foi utilizada uma solução de nistatina 0,1%. Logo após, foram colocadas em germinador (BOD) com 16 horas de luz e 25°C por 15 dias. O experimento apresentou dois tratamentos (MT e *au*) com quatro repetições. Após 15 dias foram medidos o alongamento radicular e hipocotilar das plântulas com o auxílio de um paquímetro.

3.9. Análise do órgão reprodutivo (Experimento 1 e 2)

Com aproximadamente 65 dias após a semeadura, foi realizada a contagem do número de frutos. Após a colheita, o diâmetro dos frutos foi medido com o auxílio de um paquímetro digital e pesados utilizando-se uma balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de $0,0001\text{g}$. Em seguida, as amostras

foram trituradas e uma alíquota foi retirada para a determinação do teor de sólidos solúveis por meio de um refratômetro digital (Atago PR-101 Palette, AOAC 1997).

3.10 . Análise dos resultados

Experimento 1

A comparação de médias entre MT e *au* foi realizada por meio do cálculo da diferença mínima significativa (DMS), pelo teste t de Student. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

Experimento 2

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software ASSISTAT e o efeito dos tratamentos, quando significativo, submetidos ao Teste de Duncan. As diferenças significativas entre os resultados foram comparados utilizando a diferença mínima significativa (DMS) com 95% de intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) (STEEL; TORRIE, 1987).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio dos fitocromos, a luz é um fator que modula a relação fonte-dreno durante o desenvolvimento vegetal (SILVA et al., 2003). Entretanto, pouco é sabido se a partição dos fotoassimilados entre a parte aérea e a raiz é dependente dos fitocromos. Para elucidar esse evento, o presente trabalho foi dividido em dois experimentos, sendo que no primeiro (Experimento 1) houve caracterização fisiológica, bioquímica e anatômica do mutante *au* e o controle MT, ao passo que no segundo (Experimento 2), foram realizadas enxertias entre os dois genótipos para que análises do crescimento pudessem ser realizadas. Abaixo, seguem os resultados e a discussão dos experimentos com base nas respostas das raízes e da parte aérea.

Experimento 1

As características mais evidentes da deficiência em fitocromos no mutante *au* apresentam-se no início do crescimento das plântulas, as quais têm o hipocótilo pouco pigmentado e alongado e os cotilédones cloróticos (KOORNNEF et al., 1985). Neste trabalho, é possível observar que as raízes do mutante apresentam-se com o comprimento reduzido quando comparado ao MT (Figura 2A), indicando que a deficiência em fitocromos torna o hipocótilo um forte dreno. De fato, o mutante *au* apresenta características de respostas da SES, as quais incluem um maior alongamento do caule (Figura 2B) e folhas pouco pigmentadas (Figura 6) quando comparados ao MT. Dessa forma, como esperado, em plantas com 75 dias após o transplante, foi possível observar em *au* que houve redução da massa seca, comprimento, área e densidade das raízes (Figuras 3A, 3B, 3C e 3E), ao passo que o diâmetro radicular de *au* foi semelhante ao controle (Figura 3D), traços que indicam que os fitocromos são, em parte, fatores importantes no controle do crescimento radicular de tomateiro.

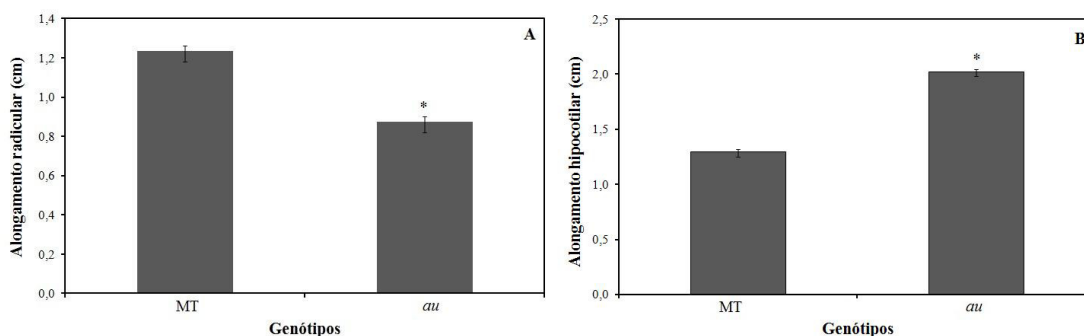


Figura 2. Alongamento radicular (A) e do hipocotilar (B) de plântulas de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com *($P \leq 0,05$).

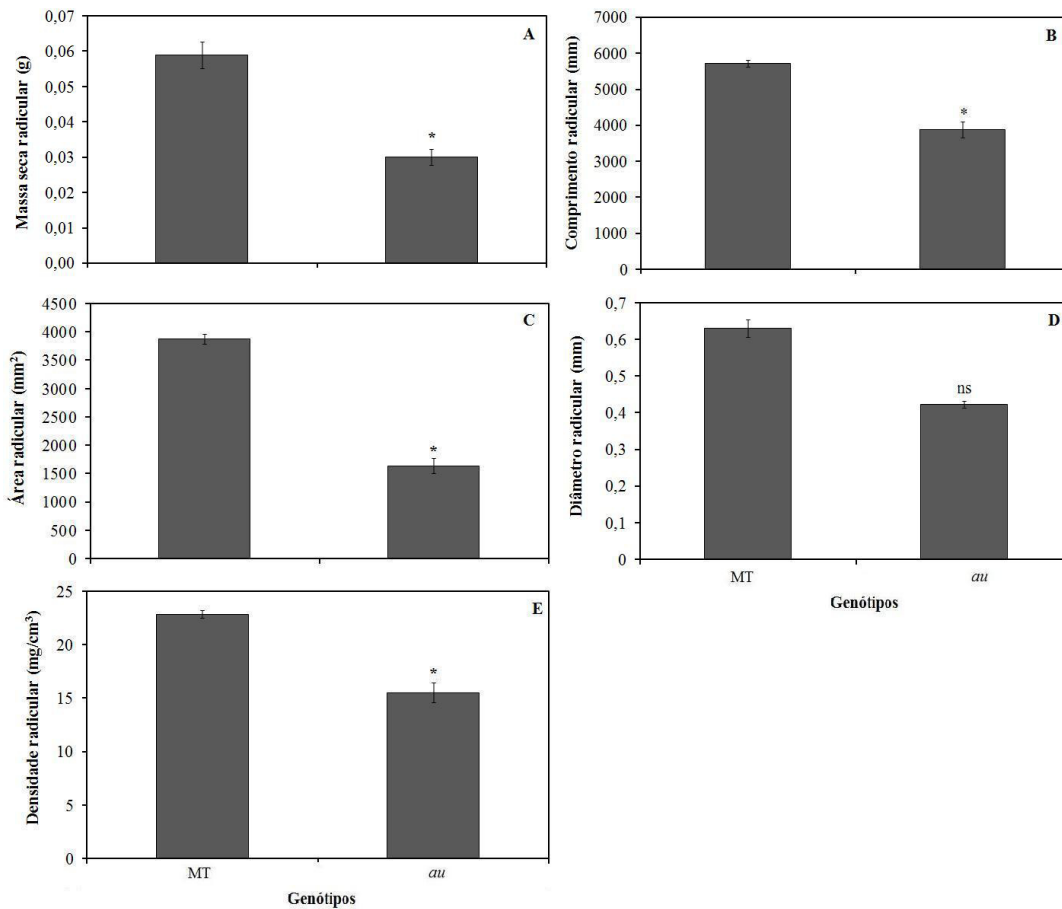


Figura 3. Massa seca radicular (A), comprimento radicular (B), área radicular (C), diâmetro radicular (D) e densidade radicular (E) de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

Embora o acúmulo de massa seca do caule (Figura 4A) e índice de ramificação (Figura 4D) não tenha sido alterada no mutante *au*, a espessura (Figura 4C) e o foi reduzida quando comparada ao MT. Esses eventos podem ter sido atribuídos a um maior alongamento caulinar em *au* (Figura 4B), e pode também estar relacionado ao crescimento das folhas, visto que, a massa seca e a área foliar reduziram quando comparados ao MT (Figura 5A e 5B).

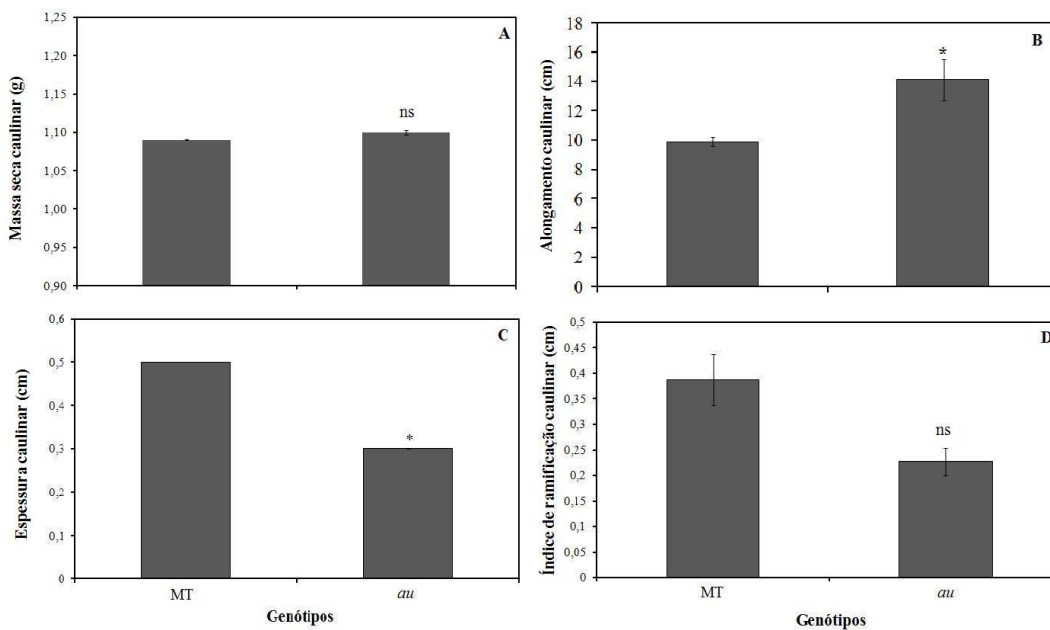


Figura 4. Massa seca caulinar (A), alongamento caulinar (B), espessura caulinar (C) e índice de ramificação caulinar (D) de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

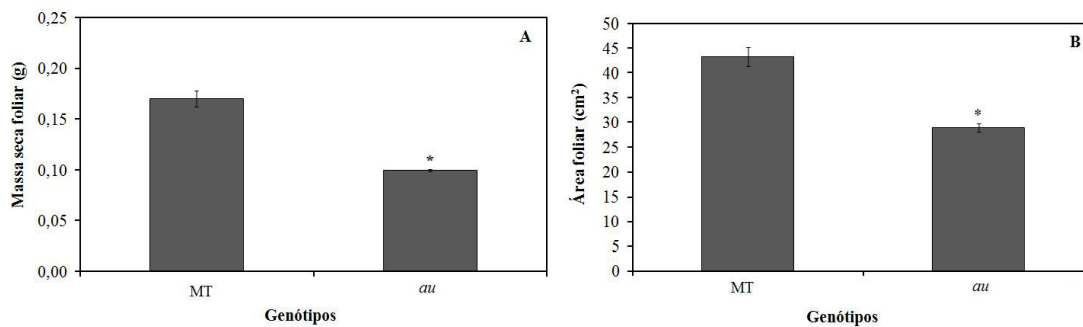


Figura 5. Massa seca foliar (A) e área foliar (B) de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

Mesmo que haja em *au* redução no crescimento da folha e baixo acúmulo de pigmentos (Figura 6), a alocação desse elemento no mutante é bastante alterada devido à deficiência em fitocromos. O acúmulo de carboidratos totais não estruturais (açúcares livres) foi reduzido nas folhas do *au* (Figura 7A), mas houve um acúmulo de amido nesse órgão (Figura 7B). Se esse é um evento resultante da concentração do amido devido à redução da expansão na folha, isso ainda é bastante complexo

visto que as folhas do mutante são mais espessas (Figura 8) ao mesmo tempo em que altera a formação cloroplastidial (SHARMA et al., 1993). Além disso, essa complexidade é somada ao fato que, em plântulas de *au*, os fitocromos são pouco acumulados, mas 70% dessas moléculas são recuperadas em plantas adultas. Esse fato resulta em plantas de *au* em respostas a SES, mas a taxa fotossintética não difere de MT (ALVES et al., 2016).

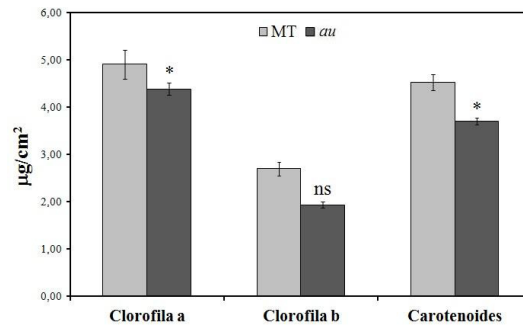


Figura 6. Teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides em folhas de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

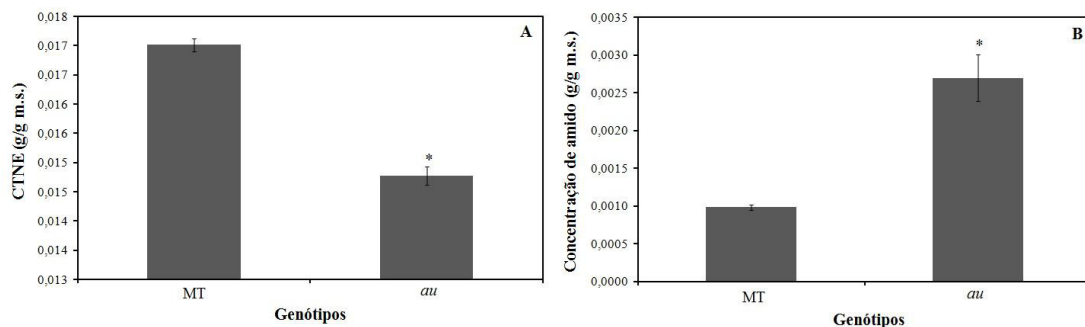


Figura 7. Teores de carboidrato total não estrutural (A) e amido (B) em folhas de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

A espessura da epiderme em plantas é uma característica que pode ser modificada em diferentes situações ambientais às quais as plantas são submetidas (MELO et al, 2011). As análises anatômicas não apresentaram diferenças em relação à espessura das epidermes adaxial e abaxial e diâmetro dos vasos condutores do xilema e do floema (Figuras 9A, 9B, 9C e 9D), no entanto, a espessura do mesofilo do mutante *au* apresentou-se maior quando comparada ao

controle MT(Figura 9E). Em *au* o aumento na espessura ocorre em função de modificações no padrão de expansão de células do mesofilo, alongando-se, ou pelo aumento no número de camada de células do parênquima paliçádico (TERASHIMA et al., 2001; KIM et al., 2005), contribuindo, assim, para o direcionamento e absorção mais uniforme da radiação pelos tecidos do mesofilo, em comparação com o MT, a diminuição da espessura dos tecidos do mesofilo é também uma resposta comum às condições de baixo fluxo de radiação (TERASHIMA et al., 2001).

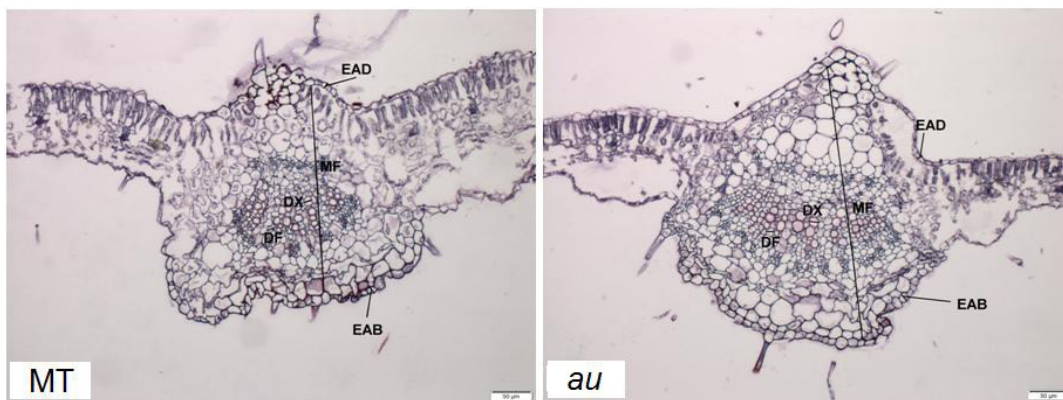


Figura 8. Corte transversal das folhas de MT e *au* indicando diâmetro dos vasos condutores do xilema (DX), diâmetro dos vasos condutores do floema (DF), espessura do mesofilo (MF), epiderme adaxial (EAD) e epiderme abaxial (EAB).

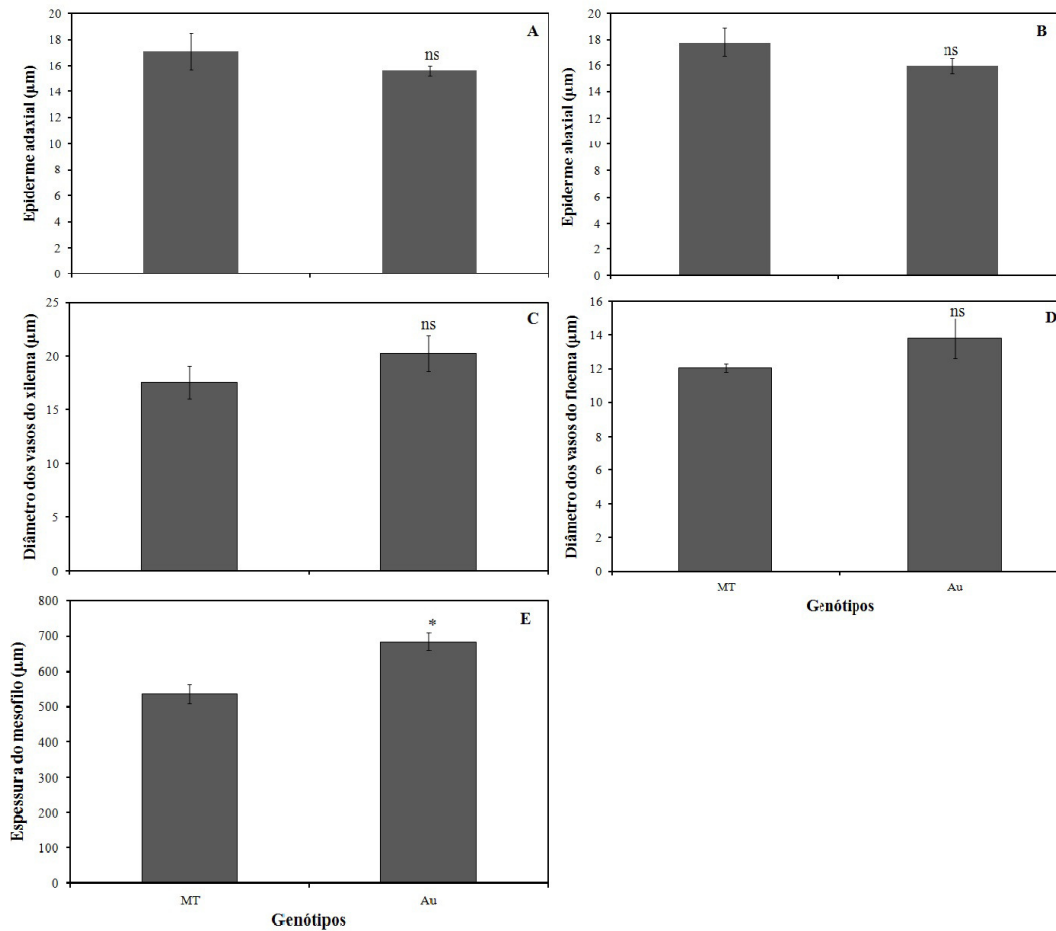


Figura 9. Epiderme adaxial (A), epiderme abaxial (B), diâmetro dos vasos do xilema (C), diâmetro dos vasos do floema (D) e espessura do mesofilo (E) de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

Considerando que *au* é deficiente na biossíntese do cromóforo, isto o torna deficiente em todos os tipos de fitocromos (eg. phyA, phyB1, phyB2, phyE e phyF em tomateiro), e phyB, predominantemente, controla a SES. Foi esperado que *au* pudesse florescer mais rapidamente do que o genótipo controle, uma vez que apresenta parte das respostas à SES, como alongamento do caule e clorose. Entretanto o mutante reduziu a formação de flores 11 dias após a antese (Figura 10A), neste mesmo período foi observado, conseqüentemente, aumento no número de frutos (Figura 10B).

Para as análises de massa fresca, diâmetro dos frutos e sólidos solúveis não houve diferença entre MT e *au* (Figuras 11A, 11B e 11C). O fato dos frutos do mutante *au* possuírem menor aparato de fotorreceptores devido à sua deficiência,

quando comparado a cultivar MT, deve-se à possibilidade desta mutação ser mais efetiva em provocar alterações em órgãos vegetativos ou ainda pode ter sido influenciado pelo fato da planta mutante apresentar os efeitos de sua mutação de forma mais proeminente em seu estágio inicial de desenvolvimento, comparativamente à planta adulta (BECKER et al., 1992), no estágio no qual ocorre a produção de frutos.

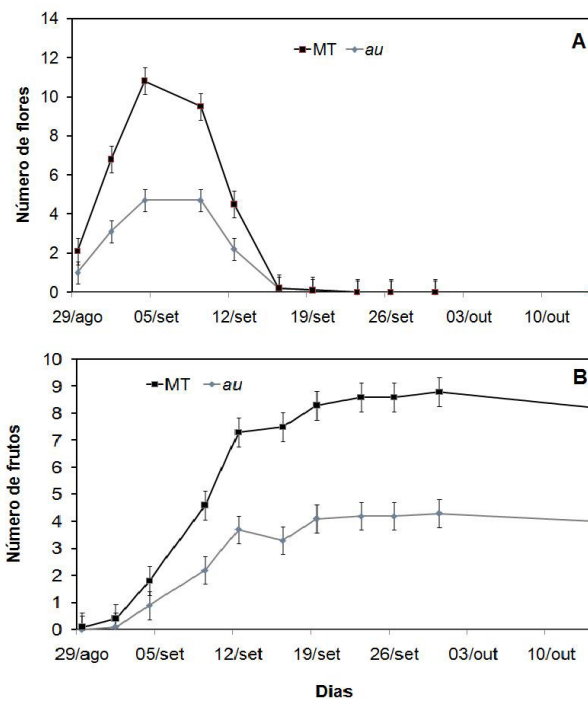


Figura 10. Número de flores (A) e frutos (B) de MT e *au* em plantas com 19 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média.

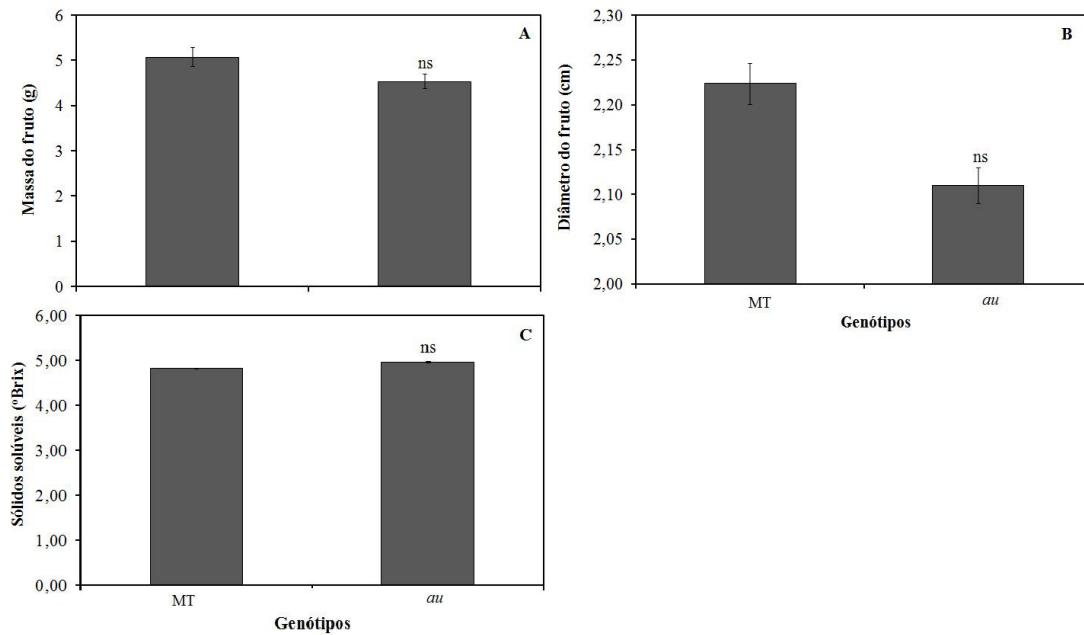


Figura 11. Massa fresca (A), diâmetro (B) e teor de sólidos solúveis (C) em frutos de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

Para verificar se as alterações no crescimento de *au* possa estar relacionado à nutrição, evento que fortemente controla o desenvolvimento vegetal, o acúmulo de N, P, K, Ca e Mg foi avaliado nas raízes e na parte aérea do mutante. Comparado ao MT, houve redução de K nas raízes, bem como N, P e Ca na parte aérea (Figura 12 A e 12B). O aspecto clorótico de *au* devido à redução no acúmulo de clorofilas parece estar associado à redução de N na parte aérea (MALAVOLTA et al., 1997). O controle osmorregulador do K e a redução desse elemento não altera o crescimento do *au*. Além disso, ainda não foi possível atribuir à redução P e Ca no mutante a qualquer traço no desenvolvimento. Certamente, uma melhor investigação deve ser feita considerando, por exemplo, as resposta de *au* à deficiência ou excesso de nutrientes.

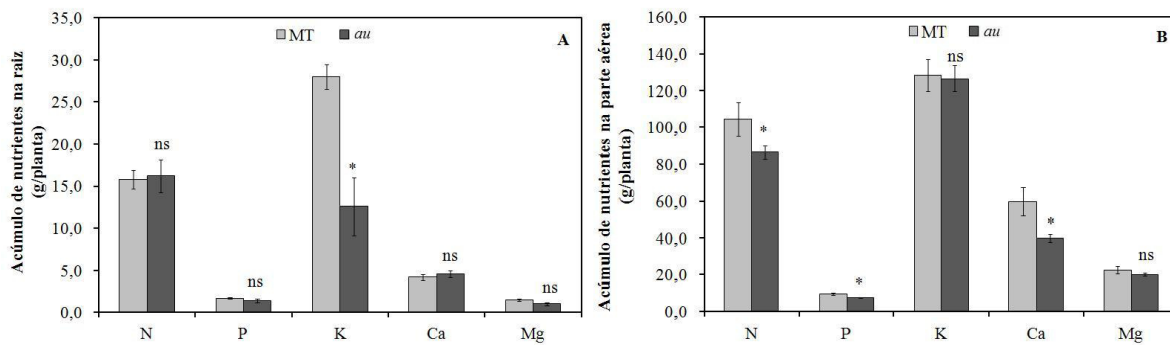


Figura 12. Acúmulo de nutrientes da raiz (A) e da parte aérea (B) de MT e *au*. Diferenças significativas, de acordo com o teste t de Student, comparando *au* com o controle MT foram indicadas com * ($P \leq 0,05$).

Tsukaya et al. (2002) sugerem que em *Arabidopsis*, a mutação em *phyB* afeta não somente o alongamento celular, mas também o número de células da folha, o que soma ao fato que os fitocromos, especialmente aqueles da família *phyB*, são parte da sinalização de controle da anatomia foliar.

Entretanto, a deficiência em *phyB*, bem como nos demais tipos de fitocromos, parece gerar em *au* respostas ainda bastante complexas considerando a deficiência na percepção da luz. Por exemplo, em *Dara-5*, um mutante de tomateiro que superexpressa *phyB*, apresentou aumento de 28% na densidade estomática em relação ao selvagem, indicando o efeito do fitocromo sobre a morfologia celular (SCHITTENHELM, et al., 2004).

Experimento 2

Para melhor compreender o controle dos fitocromos na partição de fotoassimilados entre a raiz e parte aérea em tomateiro, por meio da deficiência nesses fotorreceptores no mutante *au*, foi utilizada a técnica de enxertia entre *au* e a planta não mutante (MT), gerando combinações entre enxerto e porta-enxerto de acordo com o seguinte: MT com *au* (MT/*au*), *au* com MT (*au*/MT), bem como os controles para essas combinações: MT com MT (MT/MT) e *au* com *au* (*au*/*au*).

Considerando inicialmente o crescimento da raiz dos genótipos não enxertados, a massa seca, o comprimento, área, diâmetro e a densidade radicular de *au* apresentaram-se menores do que o controle MT, indicando que a deficiência de fitocromo resultou no menor crescimento da raiz. De fato, comparado ao MT, o uso de *au* como enxerto (*au*/MT) também reduziu a massa seca (Figura 13A), o comprimento (Figura 13B) e a densidade radicular (Figura 13E), ao passo que, quando *au* foi usado como porta-enxerto (MT/*au*), também houve redução na massa seca, no comprimento e na densidade desse órgão. Os resultados observados em MT/*au* mostraram que o MT não recupera o crescimento de *au*, mas as alterações em *au*/MT mostraram que a deficiência em fitocromos na parte aérea pode resultar em um menor crescimento da raiz em MT. Embora tenha sido mostrado em *Arabidopsis* que os fitocromos na parte aérea possam modular a longa distância o crescimento da raiz (SALISBURY et al 2007), os mecanismos moleculares da sinalização envolvidos nesse evento ainda não foram compreendidos.

Visto que o crescimento da raiz é dependente da alocação de fotoassimilados, e que a distribuição dos mesmos é dependente da morfoanatomia da raiz, foi esperado que a redução do comprimento e da densidade da raiz resultasse no aumento da área e do diâmetro desse órgão (WU et al 2016). Dessa forma, é interessante notar que, embora em MT/*au* haja redução do comprimento e da densidade da raiz, e assim aumento da área (Figura 13C) e do diâmetro radicular (Figura 13D) quando comparado ao MT, os valores dessas respostas não diferem de *au/au* e *au*/MT. Esses eventos indicam que, se o fitocromo é parte dos mecanismos que controlam o crescimento da raiz, isso parece envolver uma complexa diferenciação morfoanatômica as quais necessitam ainda ser exploradas em *au*, bem como nas combinações de enxertia com MT.

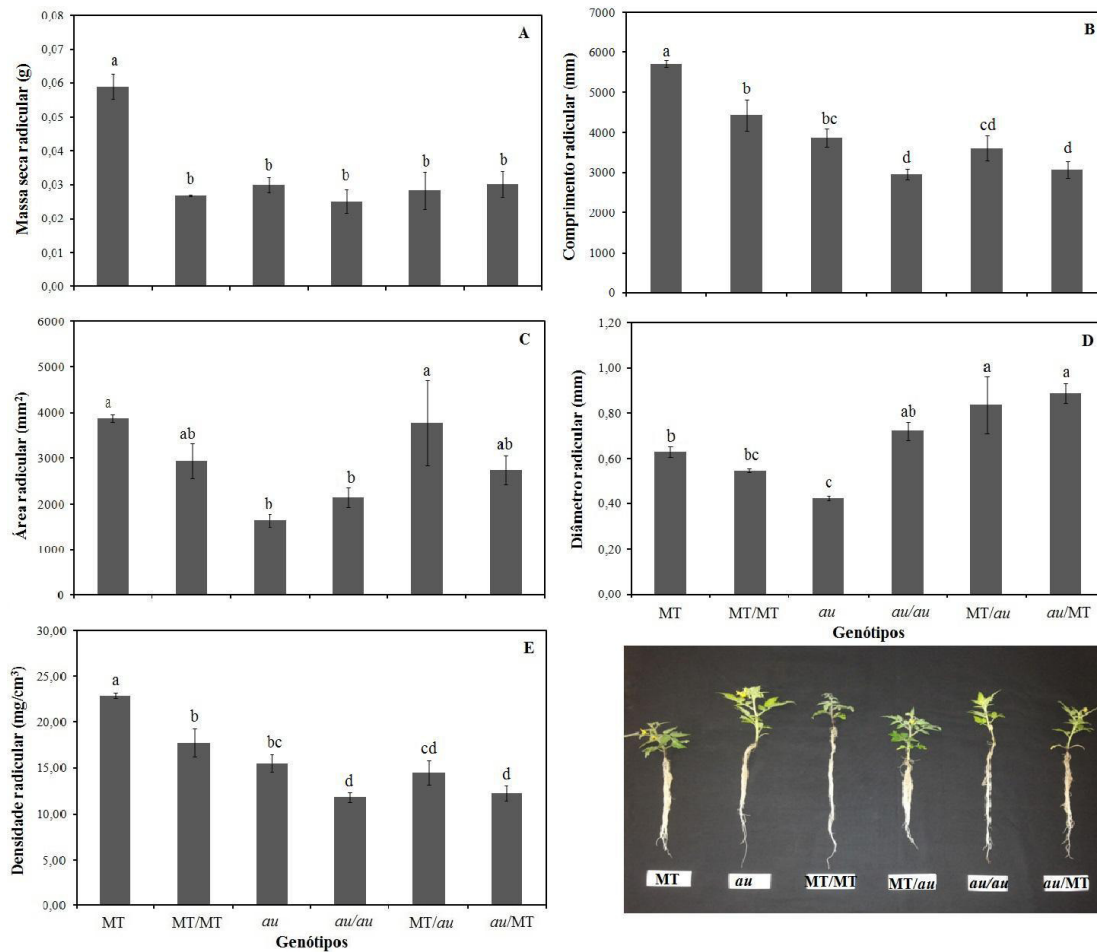


Figura 13. Massa seca de raiz (A), comprimento radicular (B), área radicular (C), diâmetro radicular (D) e densidade radicular (E) de MT e *au* com ou sem enxertia. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra comum, em cada análise, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). Barras verticais representam o erro padrão da média.

Para verificar o papel da raiz no crescimento da parte aérea, foram realizadas análises da massa seca, alongamento, espessura e índice de ramificação caulinar, bem como massa seca e área foliar dos genótipos enxertados. Para estes parâmetros, foi observado que a massa seca do caule de *au/au* diferiu de MT, *au*, MT/MT e MT/*au*, no entanto, não diferiu de *au*/MT. (Figura 14A).

É conhecido que a mutação presente em *au* induza ao maior alongamento caulinar devido à deficiência em fitocromos (TERRY; KENDRICK 1996). Neste trabalho *au* diferiu de MT (Figura 14B), porém MT não diferiu das combinações de

enxertia. Além disso, o alongamento do caule nas combinações de enxertia com *au* não diferiram de MT, indicando que a mutação não alterou pelo menos o crescimento do caule. Em relação à espessura do caule, pode ser observado que *au/au* diferiu do controle MT, MT/MT e da combinação MT/*au* (Figura 14C). A espessura do caule de *au* foi reduzida, porém *au* não reduz MT no genótipo enxertado de MT/*au* (Figura 14C).

Visto o fenótipo de *au*, incluindo o maior alongamento observado, pelo menos no primeiro experimento (Figura 4B), e a redução da espessura do caule (Figura 4C), foi esperado um menor índice de ramificação em *au*, bem como na combinação de enxertia MT/*au*. Entretanto, *au* diferiu apenas de MT e MT/MT, já, MT/*au* diferiu somente de *au/au*, resposta que pode ser explicada pela própria enxertia.

Por outro lado, houve redução tanto na massa seca quanto na área foliar de *au* e nas combinações de enxertia deste mutante com MT quando comparadas ao MT sem a enxertia (Figura 15A e 15B). Entretanto, embora os resultados indiquem que a raiz possa modular o desenvolvimento da parte aérea de maneira dependente dos fitocromos, esse evento ainda deve ser bastante explorado, pois *au*/MT não difere MT/*au* na área foliar, apenas na massa seca. Essa complexidade pode ser aumentada se fosse considerado as comparações com MT/MT em alguns casos, como na massa seca, comprimento e densidade da raiz, bem como a massa seca e a área foliar, os quais foram reduzidos comparados ao MT. Entretanto, isso não ocorreu nas demais respostas. Em outras palavras, se a redução MT/MT ocorreu devido à enxertia, esse evento não pode ser explicado para todas as etapas do crescimento.

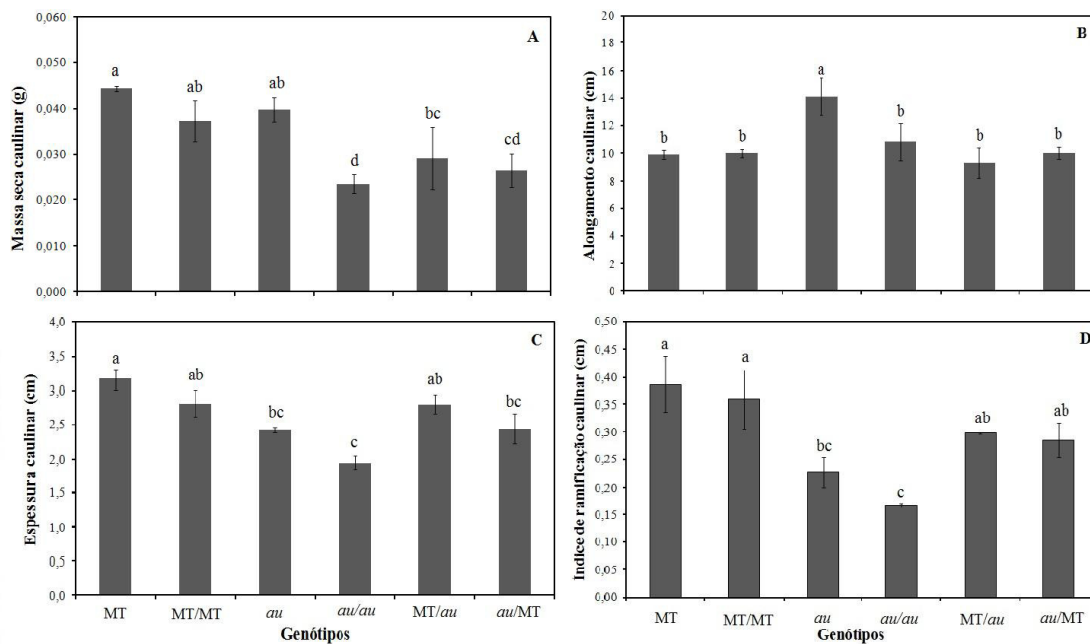


Figura 14. Massa seca (A), alongamento (B), espessura (C) e índice de ramificação caulinar (D) de MT e *au* com ou sem enxertia. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra comum, em cada análise, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). Barras verticais representam o erro padrão da média.

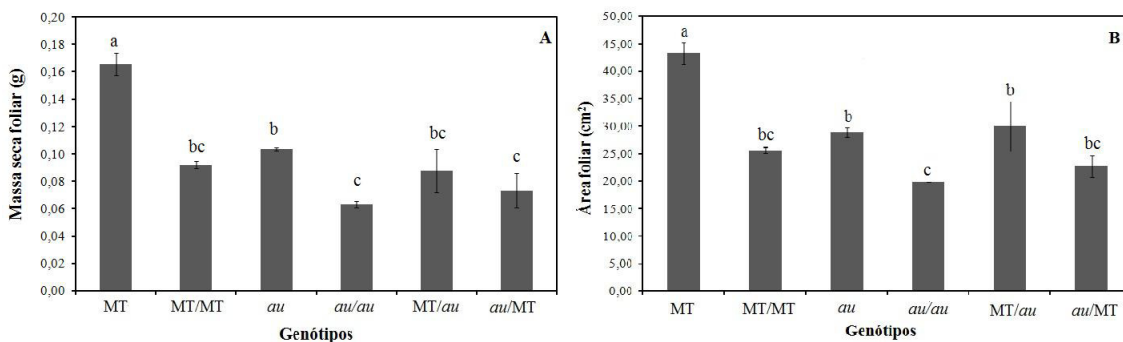


Figura 15. Massa seca (A) e área foliar (B) de MT e *au* com ou sem enxertia. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra comum, em cada análise, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). Barras verticais representam o erro padrão da média.

No que diz respeito ao órgão reprodutivo, a massa fresca do fruto de MT/MT e *au/au* diferiram do controle MT, *au* e da combinação *au*/MT (Figura 16A). O diâmetro dos frutos *au/au* diferiu dos genótipos MT, *au* e das enxertias MT/*au* e *au*/MT (Figura 16B), ao passo que para o teor de sólidos solúveis os genótipos MT e MT/*au* diferiram de MT/MT, *au*, *au/au* e *au*/MT (Figura 16C). Na mutação *au*, as respostas

dependentes de fitocromo são normalizadas próximas ao estágio de floração, indicando que eles podem sintetizar alguma quantidade de fitocromo funcional no estágio adulto, ou seja, reprodutivo. Apesar disso, o seu fenótipo de folhas cloróticas são mantidas durante todo o ciclo de vida (SHARROCK et al., 1988; KENDROR;HORWITZ, 1990; LÓPEZ-JUEZ 1990; VAN TUINEN et al., 1996; TERRY et al., 2001).

Quando observado o número de órgãos reprodutivos formados, *au* reduziu o número de flores, mas não de frutos quando comparado a MT. Entretanto, nas combinações de enxertia, essas respostas não diferiram entre os genótipos (Figura 16 D).

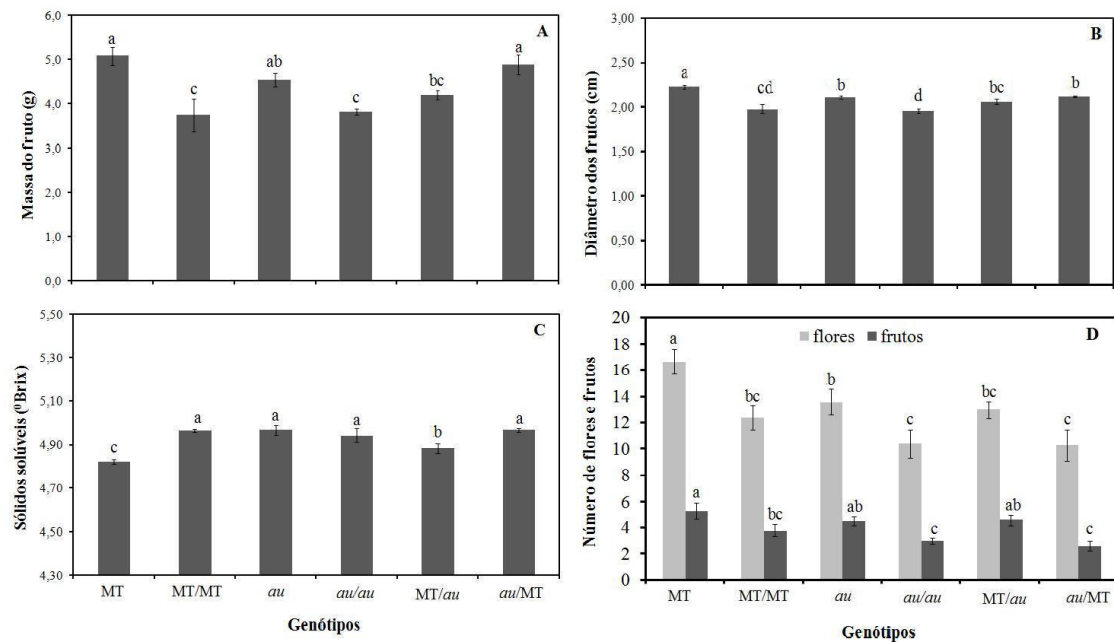


Figura 16. Massa fresca do fruto (A), diâmetro do fruto (B), teor de sólidos solúveis (C) e número de flores e frutos (D) de MT e *au* com ou sem enxertia. Médias seguidas de, pelo menos, uma letra comum, em cada análise, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P \leq 0,05$). Barras verticais representam o erro padrão da média.

5. CONCLUSÃO

Com base nas alterações do crescimento, bioquímicas, nutricionais e anatômicas da raiz e do caule de *au* observadas no primeiro experimento, bem

como nas respostas observadas a partir das combinações de enxertia entre MT e o mutante *au*, pode ser concluído que os fitocromos são parte do controle da partição de fotoassimilados entre a raiz e caule durante o crescimento do tomateiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2016: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo **FNP consultoria e comércio**. p.433-438.

ALVES, F. R. R.; MELO, H. C.; CRISPIM-FILHO, A. J.; COSTA, A. C.; NASCIMENTO, R. J. T.; CARVALHO, R. F. Physiological and biochemical responses of photomorphogenic tomato mutants (cv. Micro-Tom) under water with holding. **Acta Physiology Plant**, v. 38, p. 155 – 158, 2016.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16 ed. Washington: Ed. Patrícia Cunniff, 850p. v. 2, 1997.

BAE, G.; CHOI, G. Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. **Annu Rev Plant Biology**, v.59, p. 281–311, 2008.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. 48p. (Boletim Técnico, 78).

BECKER, T.W.; FOYER, C.; CABOCHE, M. Light-regulated expression of the nitrate-reductase and nitrite-reductase genes in tomato and in the phytochrome-deficient aurea mutant of tomato. **Planta**, v.188, p.39-47, 1992.

CARVALHO, R. F.; QUECINI, V.; PERES, L. E. P. Hormonal modulation of photomorphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) hypocotyls: physiological and genetic studies. **Plant Science**, v. 178, p. 258–264, 2010.

CARVALHO, R. F.; CAMPOS, M. L.; PINO, L.; CRESTANA, S. L.; ZSÖGÖN, A.; LIMA, J.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, n. 18, p. 1-14, 2011. <doi:10.1186/1746-4811-7-18>

CASAL, J. J. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. **Annu. Rev. Plant Biol**, v. 64, p. 403–427, 2013.

CASTILLON, A.; SHEN, H.; HUQ, E. Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks. **Trends in Plant Science** 12, v.11, p. 514-521, 2007.

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: Estrutura e Função de Órgãos Vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.

CERDAN PD, CHORY J. Regulation of flowering time by light quality. **Nature**, v. 423, p. 881–885, 2003.

CHEN M, CHORY J, FANKHAUSER C. Light signal transduction in higher plants. **Annual Review of Genetics**, v. 38, p. 87–117, 2004.

CORRELL, M. J.; COVENEY, K. M.; RAINES, S. V.; MULLEN, J. L.; HANGARTER, R. P.; KISS, J. Z. Phytochromes play a role in phototropism and gravitropism in *Arabidopsis* roots. **Adv. Space Res**, v. 31, p. 2203–2210, 2003.

CORRELL, M. J.; KISS, J. Z. The roles of phytochromes in elongation and gravitropism of roots. **Plant Cell Physiol**, v. 46, p. 317– 323, 2005.

COSTIGAN, S. E.; WARNASOORIYA, S. N.; HUMPHRIES, B. A.; MONTGOMERY, B. L. Root-localized phytochrome chromophore synthesis is required for photoregulation of root elongation and impacts root sensitivity to jasmonic acid in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 157, p. 1138–1150, 2011.

DEVLIN, P. F.; ROBSON, P. R. H.; PATEL, S. R.; GOOSEY, L.; SHARROCK, R. A.; WHITELAM, G. C. Phytochrome D acts in the shade-avoidance syndrome in *Arabidopsis* by controlling elongation growth and flowering time. **Plant Physiol**, v, 119, p. 909–915, 1999.

DODD, I. C. Root to shoot signaling: assessing the roles of 'up' and down world of long-distance signaling in plant. **Plant Soil**, v. 274, p. 251-270, 2005.

DUKE, S. O.; LANE, A. D. Phytochrome control of its own accumulation and leaf expansion in tentoxin- and norflurazon-treated mung bean seedlings. **Plant Physiology**, v.60, p. 341–346, 1984.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Planta. 2006. 403p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2005. 412p.

FRANKLIN K. A.; LARNER, V. S.; WHITELAM, G. C. The signal transducing photoreceptors of plants. **International Journal of Developmental Biology**, v. 49, p. 653-664. 2005.

GOTO, N.; KUMAGAI, T.; KOORNNEEF, M. Flowering responses to lightbreaks in photomorphogenic mutants of *A. thaliana*, a long-day plant. **Physiol Plant**. v. 83, p. 209–215, 1991.

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; TEZOTTO, T.; CARVALHO, R. F.; ALVES L. R.; PETERS, L. P.; AZEVEDO, R. A. Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. **BioMetals (Oxford)**, v.28, p.803-816, 2015.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p. 1950.

HOLM, M.; MA, L.; QU, L. J.; DENG, X. W. Two interacting Bzip proteins are direct targets of COP1-mediated control of lightdependent gene expression in *Arabidopsis*. **Genes and Development**, v. 16, p. 1247–1256, 2002.

HUQ, E.; QUAIL, P. H. PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in Arabidopsis. **EMBO**, v. 21, p. 2441–2450, 2002.

IBGE. 2016. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201410.pdf> Acesso em: 02/06/2016

KENDRICK, R. E.; NAGATANI, A. Phytochrome mutants. **Plant journal**, v.1, p. 133-139, 1991.

KEN-DROR, S.; HORWITZ, B. A. Altered phytochrome regulation of greening in an aurea mutant of tomato. **Plant Physiology**, v. 92, p. 1004-1008. 1990.

KIM, G. T.; YANO, S.; KOZUKA, T.; TSUKAYA, K. Photomorphogenesis of leaves: shade-avoidance and differentiation as sun and shade leaves. **Photochemistry Photobiology Science**, v.4, p.770-774, 2005.

KISS, J. Z.; MULLEN, J. L.; CORRELL, M. J.; HANGARTER, R. P. Phytochromes A and B mediate red-light-induced positive phototropism in roots. **Plant Physiology**. v.131, p. 1411–1417, 2003.

KOINI, M. A.; ALVEY, L.; ALLEN, T. High temperature mediated adaptations in plant architecture require the bHLH transcription factor PIF4. **Current Biology**, v. 19, p. 408–413, 2009.

KOORNNEEF, M.; CONE, J.W., DEKENS, R.G.; O´HERNE-ROBERS, E. G. O.; SPRUIT, C. J. P.; KENDRICK, R. E. Photomorphogenetic responses of long hypocotyls mutants of tomato. **Jounal plant physiology**, v.120, p. 153-165, 1985.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 221p.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.

LEON, P.; SHEEN, J. Sugar and hormone connections. **Trends Plant Science**, v. 8, p. 110–116, 2003.

LÓPEZ-JUEZ, E.; BUURMEIJER, W. F.; HEERINGA, G. H.; KENDRICK, R. E.; WESSELIUS, J. C. Response of light-grown wild-type and long hypocotyl mutant cucumber plants to end-of-day far-red light. **Photochemistry and Photobiology**, v. 52, p. 143–149. 1990.

LORRAIN, S.; ALLEN, T.; DUEK, P. D.; WHITELAM, G. C.; FANKHAUSER, C. Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. **Plant Journal**, v. 53, p. 312–323, 2008.

MALAVOLTA, E; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós. 1997.308p.

MARTINEZ-GARCIA, J. F.; GALSTYAN, A.; SALLA-MARTRET, M.; CIFUENTES-ESQUIVEL, N.; GALLEMI, M.; BOU-TORRENT, J. Regulatory Components of Shade Avoidance Syndrome. **Advances in Botanical Research**, v.53, p. 65–116, 2010.

MATHEWS, H.; CLENDENNEN, K. S.; CALDWELL, G. C.; LIU, X. L.; CONNORS, K.; MATHEIS, N.; SCHUSTER, K. D.; MENASCO, D. J.; WAGONER, W.; LIGHTNER, J.; WAGNER, D. R. Activation tagging in tomato identifies a transcriptional regulator of anthocyanin biosynthesis, modification, and transport. **Plant Cell**, v. 15, p.1689–1703, 2003.

MCLAREN, J.S.; SMITH, H. Phytochrome control of the growth and development of *Rumex obtusifolius* under simulated canopy light environment. **Plant Cell Environ.** V. 1, p. 61–67, 1978.

MEISSNER, R.; JACOBSON, Y.; MELAMED, S.; LEVYATUV, S.; SHALEV, G.; ASHRI, A.; ELKIND, Y.; LEVY, A. A new model system for tomato genetics. **The Plant Journal**, v. 12, p. 1465–1472, 1997.

MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; ALVES, E.; PERINA, F. J. Anatomia foliar de microtomateiros fitocromo-mutantes e ultra-estrutura de cloroplastos. **Ciência e. agrotecnologia de Lavras**, v. 35, n. 1, p. 11-18, 2011.

MOORE, B.; ZHOU, L.; ROLLAND, F.; HALL, Q.; CHENG, W. H.; LIU, Y. X.; HWANG, I.; JONES, T.; SHEEN, J. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. **Science**, v. 300, p. 332–336, 2003.

MORELLI, G.; RUBERTI, I. Light and shade in the photocontrol of *Arabidopsis* growth. **Trends Plant Science**, v. 7, p. 399–404, 2002.

MORRIS, S. E.; TURNBULL, C. G. N.; MURFET, I. C.; BEVERIDGE, C. A. Mutational analysis of branching in pea. Evidence that rms 1 and rms 5 regulate the same novel signal. **Plant Physiology**, Rockville, v.126, p. 1205 – 1213, 2001.

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

NAGATANI, A.; REED, J. W.; CHORY, J. Isolation and initial characterization of *Arabidopsis* mutants that are deficient in functional phytochrome A. **Plant Physiology**, v. 102, p. 269–277, 1993.

NAIKA, S., JEUDE, J. V. L., GOFFAU, M., HILMI, M., DAM, B. V. **A cultura do tomate**. Wageningen: Fundação Agromisa e CTA, 2006. p.104.

NEFF, M. M.; FANKHAUSER, C.; CHORY, J. Light: an indicator of time and place. **Genes and Development**, v. 14, p. 257–271, 2000.

PARKS, B. M.; QUAIL, P. H. hy8, a new class of *Arabidopsis* long hypocotyl mutants deficient in functional phytochrome A. **The Plant Cell**, v. 3, p. 39–48, 1993.

PASSOS, L.P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1996. 223p.

PEIL, R. M. A enxertia na produção de hortaliças. **Ciência rural**, v.33, n.6, p.1169-1177, 2003.

PELUZIO, J. M.; CASALI, V. W. D.; LOPES, N. F.; MIRANDA, G. V.; SANTOS, G. R. Comportamento da fonte e do dreno em tomateiro após poda apical acima do quarto cacho. **Ciência e agrotecnologia**, v.23, n.3, p. 510-514, 1999.

PENG, J.; HARBERD, N.P. Gibberellin deficiency and response mutations suppress the stem elongation phenotype of phytochrome-deficient mutants of Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 113, p. 1051–1058, 1997.

PEREIRA, A. A transgenic perspective on plant functional genomics. **Transgenic Research**, v. 9, p. 245–260, 2000.

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p.1649-1656, 2008.

PRATT, L. H.; CORDONNIER-PRATT, M. M.; KELMENSEN, P. M.; LAZAROVA, G. I.; KUBOTA, T.; ALBA, R. M. The phytochrome gene family in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Plant, Cell and Environment**, v. 20, p. 672-677, 1997.

RAYA-GONZÁLEZ, J.; PELAGIO-FLORES, R.; LÓPEZ-BUCIO, J. The jasmonate receptor COI1 plays a role in jasmonate-induced lateral root formation and lateral root positioning in Arabidopsis thaliana. **Journal Plant Physiology**, v.169, p.1348-1358, 2014.

REED, J. W.; NAGPAL, P.; POOLE, D. S.; FURUYA, M.; CHORY, J. Mutations in the gene for the red/far-red light receptor phytochrome B alter cell elongation and physiological responses throughout Arabidopsis development. **Plant Cell**, v. 5, 147–157, 1993.

RUPPEL, N. J.; HANGARTER, R. P.; KISS, J. Z. Red-light-induced positive phototropism in *Arabidopsis* roots. **Planta**, v. 212, p. 424–430, 2001.

SALISBURY, F. J.; HALL, A.; GRIERSON, C. S.; HALLIDAY, K. J. Phytochrome coordinates *Arabidopsis* shoot and root development. **The Plant Journal**, v. 50, p. 429–438, 2007.

SANCAR, A. Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. **Chemical reviews**, v.103, p. 2203–2237, 2003.

SCHITTENHELM, S.; MENGE-HARTMANN, U.; OLDENBURG, E. Photosynthesis, carbohydrate metabolism and yield of phytochrome B- overexpressing potatoes under different light regimes. **Crop Science**, v.44, p.131-143, 2004.

SCOTT, J. W.; HARBAUGH, B. K. MicroTom a miniature dwarf tomato. **Florida Department of Agriculture**, v. 370, p. 1-6, 1989.

SHARMA, R.; LÓPEZ-JUEZ, E.; NAGATANI, A.; FURUYA, M. Identification of photo-inactive phytochrome A in etiolated seedlings and photoactive phytochrome B in green leaves of *aurea* mutant of tomato. **Plant Journal**, v.4, p.1035-1042, 1993.

SHARROCK, R. A.; PARKS, B. M.; KOORNNEF, M.; QUAIL, P. H. Molecular analysis of the phytochrome deficiency in an *aurea* mutant of tomato. **Molecular and General Genetics**, v. 213, p. 9-14, 1988.

SHARROCK, R. A.; QUAIL, P. H. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. **Genes and Development**, v. 3, p. 1745-1757. 1989.

SHISHIDO, Y.; KASUO, A.; KUMAKURA, H.; YUN, C.J.Y.; SEYAMA, N.; IMADA, S. Effects of developmental stages and topping on photosynthesis, translocation and distribution of ¹⁴C-assimilates in tomato plant. **The Bulletin of Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea**, Japan, v.6, p.191-196, 1990.

SILVA, H.R.; COSTA, N.D. **Exigências de clima e solo e época de plantio**. In: _____; _____. (Eds.). *Melão produção: aspectos técnicos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.23-28.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. A biometrical approach. 2.ed. New York: McGraw-Hill Book, 1987. 633p.

SUN, Q.; YODA, K.; SUZUKI, H. Internal axial light conduction in the stems and roots of herbaceous plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 191–203, 2005.

TAKANO, M.; INAGAKI, N.; XIE, X.; KIYOTA, S. Phytochromes are the sole photoreceptors for perceiving red/far-red light in rice. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 106, p. 14705–14710, 2009.

THAPPER, A.; MAMEDOV, F.; MOKVIST, F.; HAMMARSTROM, L.; STYRING, S. Defining the Far- Red Limit of Photosystem II in Spinach. **Plant Cell**, v. 21, p. 2391–2401, 2009.

TERASHIMA, I.; MIYAZAWA, S.I.; HANBA, Y.T. Why are sun leaves thicker than shade leaves?: consideration based on analyses of CO₂ diffusion in the leaf. **Journal Plant Research**, v.114, p.93-105, 2001.

TERRY, M. J.; KENDRICK, R. E. The aurea and yellow-green-2 mutants of tomato are deficient in phytochrome chromophore synthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 21681-21686, 1996.

TERRY, M. J.; RYBERG, M.; RAITT, C. E.; PAGE, A. M. Altered etioplast development in phytochrome chromophore-deficient mutants. **Planta**, v. 214, p. 314-325, 2001.

TSUKAYA, H. Developmental genetics of leaf morphogenesis in dicotyledonous plants. **Journal Plant Research**, v.108, p. 407–416, 1995.

TSUKAYA, H.; KOZUKA, T.; KIM, G.T. Genetic control of petiole length in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiology**, v.43, p.1221-1228, 2002.

VAN TUINEN, A.; HANHART, C. J.; KERCKHOFFS, L. H. J.; NAGATANI, A.; BOYLAN, M. T.; QUAIL, P. H.; KENDRICK, R. E.; KOORNNEEF, H. Analysis of phytochrome-deficient yellow-green-2 and aurea mutants of tomato. **Plant Journal**, v. 9 , p. 173-182, 1996.

VAN TUINEN, A.; KERCKHOFFS, L. H. J.; NAGATANI, A.; KENDRICK, R. E.; KOORNNEEF, M. Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficient mutants of tomato. **Molecular and General Genetics**, v. 246, p. 133-1, 1995.

VANDENBUSSCHE, F.; PIERIK, R.; MILLENAAR, F. F.; VOESENEK, L. A.; VAN DER STRAETEN, D. Reaching out of the shade. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 8, p. 462–468, 2005.

VERKLEY, F. V.; CHAELA, H. Diurnal export and carbon economy in an expanding source leaf of cucumber at contrasting source and sink temperature. **Physiology Plantarum**, Munksgard, v.74, n.2, p.284-293, 1988.

WHITELAM, G. C.; JOHNSON, E.; PENG, J.; CAROL, P.; ANDERSON, M. C.; COWL, J. S.; HARBERD, N. P. Phytochrome A null mutants of Arabidopsis display a wild-type phenotype in white light. **The Plant Cell**, v. 5, p. 757–768, 1993.

WU, Q.; LOÏC, P.; WU, J. Relationships between root diameter, root length and root branching along lateral roots in adult, field-grown maize, **Annals of Botany**, v.117, p. 379–390, 2016.

YANOVSKY, M.; CASAL, J. J.; WHITELAM, G. C. Phytochrome A, phytochrome B and HY4 are involved in hypocotyl growth responses to natural radiation in Arabidopsis: weak de-etiolation of the phyA mutant under dense canopies. **Plant Cell Environ**, v.18, p. 788–794, 1995.