

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERAÇÃO DOS FITOCROMOS A, B1 E B2 DE
TOMATEIRO COM A AUXINA DURANTE A SÍNDROME DE
EVITAÇÃO À SOMBRA**

**Joel Cabral dos Santos
Engenheiro Agrônomo**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERAÇÃO DOS FITOCROMOS A, B1 E B2 DE
TOMATEIRO COM A AUXINA DURANTE A SÍNDROME DE
EVITAÇÃO À SOMBRA**

Discente: Joel Cabral dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho

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

2020

S237i

Santos, Joel Cabral dos

Interação dos fitocromos A, B1 e B2 de tomateiro com a auxina durante a síndrome de evitação à sombra / Joel Cabral dos Santos. -- Jaboticabal, 2020

92 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Rogério Falleiros Carvalho

1. Fisiologia Vegetal. 2. Plantas Fotomorfogenese. 3. Fitocromo. 4. Hormônios vegetais. 5. Tomate. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INTERAÇÃO DOS FITOCROMOS A, B1 E B2 DE TOMATEIRO COM A AUXINA DURANTE A SÍNDROME DE EVITAÇÃO À SOMBRA

AUTOR: JOEL CABRAL DOS SANTOS

ORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

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

Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP

Prof. Dr. LAZARO EUSTÁQUIO PEREIRA PERES
Departamento de Ciências Biológicas / ESALQ / USP
(VIDEOCONFERÊNCIA)

Profa. Dra. DURVALINA MARIA MATHIAS DOS SANTOS
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal
(VIDEOCONFERÊNCIA)

Profa. Dra. NÚBIA PEREIRA DA COSTA
Depto. de Ciências Biológicas, / CCA / UFPB
(VIDEOCONFERÊNCIA)

Prof. Dr. FREDERICO ROCHA RODRIGUES ALVES
Laboratório Didático de Fisiologia Vegetal / ICB/UFG - Goiânia/GO
(VIDEOCONFERÊNCIA)

Jaboticabal, 08 de junho de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JOEL CABRAL DOS SANTOS – Filho de Maria do Desterro Santos, nascido em 22 de setembro de 1987 no município de Zabelê-PB. Em 2007, ingressou no curso técnico em Agroindústria no Colégio Agrícola Vidal de Negreiros na Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Campus de Bananeiras. Em 2010, iniciou a graduação em Agronomia na Universidade Federal da Paraíba – UFPB – Areia-PB. Foi bolsista PET (Programa de Educação Tutorial) entre os anos de 2010 a 2014. Entre os anos 2012 a 2014, fez estágio voluntário no PIVIC - CNPq (Programa Voluntário de Iniciação Científica) no Laboratório de Biologia Celular e Cultura de Tecidos Vegetais onde realizou seu trabalho de conclusão de curso, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo e, em razão dele, o prêmio Láurea Acadêmica. Em agosto de 2014, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal. Durante o período de realização do mesmo, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e obteve o título de Mestre em Agronomia no ano de 2016. Em março de 2016, ingressou no curso de Doutorado, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho. Durante o doutorado, foi bolsista CNPq e membro do conselho do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) por dois anos. Possui como principal linha de pesquisa a interação entre a fotomorfogênese e os demais fatores relacionados ao desenvolvimento vegetal, bem como os mecanismos fisiológicos de resposta aos estresses abióticos em plantas cultivadas. Atualmente, é professor substituto do Curso de Agronomia da Universidade Estadual do Maranhão/Centro de Estudos Superiores de Balsas - MA.

*Presentemente eu posso me considerar um sujeito de sorte
Porque apesar de muito moço me sinto são e salvo e forte...
Tenho sangrado demais, tenho chorado pra cachorro
Ano passado eu morri mas esse ano eu não morro...*

Belchior

*Só resisti porque nasci num pé-de-serra
E quem vem da minha terra resistência é profissão
Que nordestino é madeira de dar em doido
Que a vida enverga e não consegue quebrar não
Sobrevivi e tô aqui contando a estória*

Accioly Neto

Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.

Bernardo de Chartres - Isaac Newton

Dos muitos intrincados e belos mecanismos de controle do desenvolvimento que os organismos vivos evoluíram para otimizar sua sobrevivência em um ambiente variável, nenhum é mais elegante do que o sistema dos fitocromos em plantas.

Warren L. Butler

Aos meus sobrinhos Amanda Victória, Ana Luisa, Fernando, Flávio, Gustavo,
Gabriel, Beatriz e Izabelly.

Ofereço

À minha mãe, Maria do Desterro e ao meu pai José Cabral.

A minha vó Maria Félix (Maria de Jubilino)

Aos meus irmãos Maria Dejanete, Dejailma, Janiel, Joelma, Jucielha, Jucilane e
Jairon.

À minha esposa Leandra Barrozo

Minha filha Laura Barrozo Cabral

Dedico

AGRADECIMENTO

A toda minha família, especialmente à minha amada mãe Maria do Desterro (Neném), por todo apoio e incentivo nas minhas escolhas.

À minha esposa, Leandra Barrozo, por todo amor, carinho, atenção, paciência, compreensão durante os anos que temos construído juntos e, claro, por toda ajuda na construção deste trabalho. E por me dá o melhor presente durante o doutorado: Laura Barrozo Cabral, nossa filha, minha companheira de trabalho durante as madrugadas. Amo vocês.

Ao professor Dr. Rogério Falleiros Carvalho, por ter me recebido como seu orientado, pela oportunidade, por toda paciência, compreensão, ensinamentos aqui recebidos durante cinco anos e pela construção deste trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Vinicius da Costa Galvão, por todo suporte, ensinamentos durante a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, bem como ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) pela oportunidade de cursar o doutorado e pela estrutura disponibilizada.

À técnica e “mãe” do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Sônia Carregari (Soninha), por toda ajuda, atenção, cuidado e carinho ao longo dos quase seis anos na Unesp. Os dias mais difíceis eram amenizados pelos seus abraços.

Ao técnico do Laboratório de campo de Fisiologia Vegetal, “Seu” Jamil, por toda ajuda e cuidado com o material de estudo. Foram longos três anos produzindo tomate sem parar, sem o qual não seria possível realizar este trabalho.

Ao Prof. Luciano Freschi, IB-USP, por todo apoio e viabilização das análises de sequenciamento dos mutantes, do GUS e quantificação do AIA. Inclusive indo para bancada realizar análise. Um grande exemplo de humildade.

Às professoras Priscila Gratão e Durvalina M. M. dos Santos, por todo apoio e suporte no Laboratório de Fisiologia Vegetal, durante os cinco anos.

Ao Dr. Lucas Gaion, por toda ajuda a mim dispensada, durante todo desenvolvimento do doutorado, principalmente no momento mais difícil para conclusão deste trabalho.

A todos os amigos que contribuíram de forma direta para este trabalho: José Clebson, Caroline Cardoso, Reginaldo Oliveira, Carla Constanza, Renato Lima, Leandra Barrozo, Antônio Márcio, Rafael Barreto, Leonardo Correia, Gilmar Nunes (elaboração das figuras), Marina Gavassi. Esse trabalho foi construído a muitas mãos. E também pelos momentos de lazer compartilhados.

À minha sogra, Isabel Barrozo, por ter deixado o conforto do seu lar para nos ajudar a cuidar da nossa princesa Laura.

Aos orientadores da graduação Prof^a. Núbia e Prof. Jacinto, por todos os ensinamentos ao longo da graduação, pelos incentivos durante o mestrado e doutorado para que chegasse ao objetivo alcançado e por todos os conselhos para tomada de decisões.

Aos demais colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal: Emilaine, Gilmar, Victor, Mirela, Domingos, Ricardo Borja, Leticia, Antônio, Cássia, Mayara, Kevein, Flávio Cruz, pelos momentos de aprendizado compartilhados.

A Aline Bertinatto, Frederico Rocha e Ricardo Binchetti, pelo treinamento das análises do GUS e de sequenciamento genético dos mutantes, no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal – IB-USP.

Aos amigos com quem dividi o apartamento durante o doutorado, Gilberto Rostriola e Carla Costa, Rodolfo Lizcano (Rodolfito). Robson Medieros, Joacir (Piá).

Aos amigos Romério Zeferino (obrigado por ter me visto e não desistir de mim), José Anael, Almir Cleydson, Sandra Belê, Anely Neves, Fabiana Monteiro, Iris Henrique, por todo carinho, apoio para construção desse sonho.

Aos demais amigos que encontrei ou reencontrei: Mancha (Luiz Cláudio), Paulo Alexandre, Gabriel, Miquéias, Prof. Aguinaldo, Wallace Leite, Fábio, Mingotte, Cid Campos, Gelza, Marcelo Barbosa, Luan, Emanuel, Patrick, Gustavo, Ricardo (Tchow), pelos bons momentos vividos juntos.

A tia Estelita pelo apoio dado na cidade de São Paulo, durante uma semana de muitos desafios.

Ao professor Rouverson, pelas palavras de incentivo e compreensão na reta final deste trabalho.

A turma do futebol da PG/Funcionários/Convidados, que são muitos e não conseguiria citar todos, mas em especial ao “Magal” *in memoriam*. Foram partidas bem agitadas, principalmente pelo meu grande talento em perder gols.

Aos professores da FCAV/UNESP que contribuíram ao longo deste doutorado.

Aos funcionários da STPG: Branca, Márica, Diego, Moysés, do DBAA Márica, Lucinda e o Aldo, e do setor de horticultura, Inauro e Reinaldo por todo serviço e atenção prestado a mim.

À minha psicóloga Valéria Albuquerque, pelo bom trabalho realizado durante as terapias para a finalização deste trabalho.

A todos os homens e mulheres que lutaram e lutam pela democratização do Ensino Superior gratuito e de qualidade no Brasil.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

Meu muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Tomateiro como modelo fisiológico.....	3
2.2. Sombreamento e a modulação dessa resposta pelos fitocromos.....	7
2.3. Auxinas e as respostas das plantas ao sombreamento.....	11
2.4. Interação dos fitocromos e auxinas nas respostas das plantas ao sombreamento.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Material vegetal.....	17
3.2. Condições de crescimento e indução da SES.....	17
3.3. Aplicação de auxina ou inibidor do transporte desse hormônio.....	19
3.4. Análises do crescimento.....	19
3.5. Concentração de pigmentos.....	20
3.6. Ensaio Histoquímico – Revelação do GUS.....	20
3.7. Quantificação de auxina (AIA) hipocotilar.....	21
3.8. Delineamento experimental e tratamento estatístico.....	22
4. RESULTADOS.....	22
4.1. Indução da SES – uso dos mutantes <i>dgt</i> e <i>entire</i>	22
4.2. Ensaio Histoquímico – revelação do GUS.....	26
4.3. Indução da SES – uso de AIA e NPA nos mutantes <i>phyA</i> , <i>phyB1</i> e <i>phyB2</i>	27
5. DISCUSSÃO.....	40
5.1. Função das auxinas durante a SES em tomateiro.....	40
5.2. Interação entre fitocromos e auxina durante a SES.....	44
6. CONCLUSÃO.....	56
7. REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICES.....	74

INTERAÇÃO DOS FITOCROMOS A, B1 E B2 DE TOMATEIRO COM A AUXINA DURANTE A SÍNDROME DE EVITAÇÃO À SOMBRA

RESUMO - Plantas que necessitam de radiações luminosas mais intensas, quando crescidas em ambientes sombreados, desencadeiam uma série de respostas compreendidas como "síndrome de evitação à sombra" (SES). Visto que a SES é modulada principalmente pelas mudanças na proporção entre vermelho e vermelho extremo (V:VE), é evidente o envolvimento dos fitocromos na regulação desse fenômeno. É bem conhecido que as famílias do tipo A (phyA) e B (phyB) de fitocromos são os fatores mais importantes na modulação da SES. Entretanto, tem se tornado cada vez mais evidente que as auxinas são parte da sinalização dos fitocromos. Desta forma, neste trabalho estudou-se como os fitocromos A, B1 e B2 de tomateiros interagem com as auxinas durante a SES. Para tanto, utilizou-se o MT e os mutantes com baixa e alta sensibilidade à auxina *diageotropica* (*dgt*) e *entire* (*e*), respectivamente, crescidos sob luz branca ou sob baixa razão de vermelho/vermelho extremo e o MM e os mutantes em fitocromo *phyA*, *phyB1* e *phyB2* nas mesmas condições de luminosidade, mais a aplicação de auxina e do inibidor do transporte deste hormônio. Descobriu-se que o hipocótilo do *dgt* e do *entire* alongaram igualmente ao MT sob baixa V:VE. Entretanto, este alongamento nos mutantes resultou também em maior acúmulo de carbono na parte aérea. Finalmente, demonstrou-se que a SES em tomateiro é decorrente de diferentes formas de interação dos fitocromos A, B1 e B2 com as auxinas e que o NPA promove o alongamento do hipocótilo de tomateiro, ou seja, o transporte polar de auxina não é fator limitante para a SES.

Palavras-chave: Estiolamento, Fotorreceptores, *Solanum lycopersicum*, Transporte polar das auxinas

INTERACTION OF THE TOMATO PHYTOCHROMES A, B1, AND B2 WITH AUXIN DURING SHADE-AVOIDANCE SYNDROME

ABSTRACT - Plants that require more intense light radiation, when grown in shaded environments, trigger a series of responses called "shade-avoidance syndrome" (SAS). Since SAS is mainly modulated by changes in the ratio between red and far-red (R:FR), the involvement of phytochromes in the regulation of this phenomenon is evident. It is well known that amongst families of phytochromes, type A (phyA) and B (phyB) are the most important factors in the modulation of SAS. However, it has become increasingly evident that auxins are part of the phytochrome signaling. Thus, we studied how phytochromes A, B1, and B2 of tomatoes interact with auxins during SAS. For this purpose, we used MT and two mutants with low and high sensitivity to the auxin, *diageotropic (dgt)* and *entire (e)*, respectively, both grown under white light or under low red/far-red ratio; as well as MM and mutants in phytochromes *phyA*, *phyB1*, and *phyB2* under the same light conditions, plus the application of auxin and its transport inhibitor. We discovered that the hypocotyl of *dgt* and *entire* also elongated equally to the MT under low R:FR. However, this elongation in the mutants also resulted in a greater accumulation of carbon in the shoot. Finally, the SAS in tomato is due to different forms of interaction between phytochromes A, B1, and B2 with auxins, and that NPA promotes the tomato hypocotyl elongation, i.e., the polar auxin transport is not a limiting factor for SAS.

Keywords: Etiolation, Photoreceptors, *Solanum lycopersicum*, Polar auxin transport

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Área cotiledonar
AIA	Ácido indol-3-Acético
AUX/IAA	Auxin/indole-3-acetic acid inducible
BOD	Biochemical oxygen demand
Ca	Clorofila <i>a</i>
Cb	Clorofila <i>b</i>
Ca+b	Clorofila total
DELLA	Proteínas DELLA
<i>Dgt</i>	<i>Diageotropica</i>
<i>e</i>	<i>Entire</i>
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
GUS	β-glucuronidase
HY5	LONG HYPOCOTYL 5
LB	luz branca
LED	Light Emitting Diode
MM	Moneymaker
MSPA	Massa seca de parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
MT	Micro-Tom
NPA	Ácido-1-N-na ftifalâmico
PIN	Pin-formed
phy	Fitocromo
phyA	Fitocromo A
<i>phyA</i>	Mutante em fitocromo A
phyB1	Fitocromo B1
<i>phyB1</i>	Mutante em fitocromo B1
phyB2	Fitocromo B2
<i>phyB2</i>	Mutante em fitocromo B2
phyE	Fitocromo E
phyv	Fitocromo inativo
phyve	Fitocromo ativo
PIFs	Phytochrome-interacting factor
PIN	Pin-formed
RBF	Resposta de baixa fluência
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa
RFB	Repostas de fluência baixa
RIA	Respostas de irradiância alta
RFMB	Repostas de fluência muito baixa
SES	Síndrome de evitação à sombra
TGCR	Tomato genetics resource center
TIBA	Ácido 2,3,5-triidobenzóico
V	Vermelho
VE	Vermelho extremo
V:VE	Relação vermelho – vermelho extremo
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A

1. INTRODUÇÃO

O crescimento de plantas sob a copa das árvores, de modo adensado ou consórcio entre espécies cultivadas pode gerar um ambiente altamente sombreado. Esta condição induz uma severa alteração no crescimento, determinada, principalmente, pelas mudanças na relação fonte e dreno, a qual é desencadeada pela necessidade das plantas de se alongarem para melhor crescerem em condições ideais de luminosidade. Desta forma, o caule torna um importante dreno para nutrientes e fotoassimilados e, conseqüentemente, faz esgotar os recursos disponíveis para o crescimento das raízes, expansão foliar e síntese de pigmentos (Casal, 2013; de Wit et al., 2018). Além disso, muitas espécies produzem flores precocemente em condição de sombreamento na tentativa de gerar descendentes. Isso, certamente, resulta em uma forte translocação orgânica para os órgãos reprodutivos (Franklin, 2008; Casal, 2012).

Durante o sombreamento, há uma seletiva absorção da radiação pelas folhas mais expostas ao ambiente luminoso, ou seja, folhas localizadas em extratos superiores da vegetação absorvem fortemente os comprimentos de onda do ultravioleta (UV) B (~280 - 320 nm), (UV) A (~320 - 400) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (~400 e 700 nm), em particular as regiões azuis e vermelhas (V) (~ 600 - 700 nm) do espectro da luz, e refletem, predominantemente, comprimentos de onda da radiação não fotossinteticamente ativa, tais como o verde e amarelo (~500 - 600) e comprimentos de onda mais longos, como exemplos o vermelho extremo (VE) (~700 - 800 nm) e infravermelho (Carvalho et al., 2010a; Martínez-Garcia et al., 2014; Yang et al., 2018).

O conjunto de respostas fisiológicas ao sombreamento, entre elas o alongamento do hipocótilo, pecíolo, crescimento hiponástico das folhas, floração precoce e baixo acúmulo de clorofilas, é compreendido como a síndrome de evitação à sombra (SES) (Smith, 1995; Casal, 2013), a qual é modulada, principalmente, pelas mudanças na proporção de V e VE (V:VE). Desta forma, a redução de V:VE que ocorre durante o sombreamento é, reconhecidamente, um importante sinal que controla a SES. Entretanto, é necessário que a V:VE seja percebida por fotorreceptores especializados para que haja, então, uma complexa

transdução de sinal para que a SES seja desencadeada (Martínez-García et al., 2010; Ballaré e Pierik., 2017). Tais fotorreceptores, os fitocromos, apresentam picos de absorção em V e VE do espectro luminoso. Essas moléculas são proteínas diméricas (~130 KDa) ligadas, covalentemente, a uma fitocromobilina, um tetrapirrol linear de cadeia aberta que age como cromóforo. Essas moléculas apresentam duas formas caracterizadas como ativa e inativa. 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 e Choi, 2008; Galvão e Fankhauser, 2015).

Entretanto, tem sido mostrado que as respostas das plantas à baixa V:VE envolvem complexas vias de sinalização, das quais uma série de moléculas pode fazer parte, principalmente hormônios. Assim, embora seja evidente a participação de todas as classes hormonais, giberelinas, citocininas, auxinas, etileno, brassinosteróides, ácido jasmônico e estrigolactonas nas mudanças morfológicas das respostas à evitação à sombra (Jia et al., 2014; de Wit et al., 2016a), as auxinas têm tido mais atenção nas abordagens para compreensão dos seus efeitos nas mudanças fenotípicas das plantas durante o sombreamento (de Wit et al., 2016a) devido, por exemplo, ao maior alongamento do caule, dominância apical e hiponastia das folhas estarem relacionados a altos níveis de auxinas (Casal, 2013).

De fato, as respostas das plantas ao sombreamento, mediadas pelos fitocromos, ainda envolvem uma rede complexa de transcrição de genes e fatores de transcrição, como os PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS (PIFs 4, 5 e 7, principalmente), os quais têm sido mostrado como importantes reguladores da biossíntese das auxinas, pois controlam a transcrição de genes ligados a tal processo em ambiente com baixa V:VE; genes reguladores da biossíntese (YUC), do transporte e do efluxo (PIN- FORMED) das auxinas, entre outros (Casal 2013; Hersch et al., 2014; Fraser et al., 2016; de Wit et al., 2016a). Com isso, essa cascata de sinalização, que é desencadeada pelos fitocromos em resposta à baixa V:VE, tem sido parcialmente elucidada, graças às ferramentas moleculares, genômicas e ao uso de mutantes defectivos em phyA, phyB1 e phyB2, principalmente.

Contudo, muitas lacunas ainda necessitam ser preenchidas na intrincada rede de sinalização que modula as respostas da SES. Como exemplo, a interação de cada fitocromo com as auxinas durante a SES. Recentemente, Schrager-Lavelle et al. (2016) demonstraram, por meio do uso de um tomateiro transgênico para phyE, que este fitocromo é requerido para atenuar as respostas à SES quando ocorre a ausência de phyB1 e phyB2, estabelecido (phyB2) como o principal fitocromo regulador das respostas à SES em *Arabidopsis thaliana* (L.) (*Arabidopsis*) e tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) (Casal, 2012, 2013; de Wit et al., 2016a). Vale ressaltar que a maioria dos estudos sobre a função das auxinas nas respostas à SES tem sido feita com plântulas de *Arabidopsis*, usando o alongamento do hipocótilo como uma leitura apropriada da resposta de crescimento (de Wit et al., 2013). Entretanto, alguns trabalhos têm sugerido que o alongamento do hipocótilo na luz e no escuro envolve diferentemente a ação das auxinas em *Arabidopsis* e tomateiro (Jensen et al., 1998; Kraepiel et al., 2001).

Torna-se cada vez mais evidente que as auxinas são parte da sinalização dos fitocromos, o que permite levantar uma série de questões, tais como: há interação entre os fitocromos de tomateiro e as auxinas durante a SES?; são as auxinas parte da sinalização de phyA e phyB de tomateiro nas respostas da SES?; se sim, como esses eventos ocorrem em plântulas de tomateiro?

Para tentar responder essas questões, objetivou-se com esse trabalho conhecer a interação do phyA, phyB1 e phyB2 com as auxinas nas respostas inerentes à SES em tomateiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Tomateiro como modelo fisiológico

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tem sido cada vez mais utilizado como modelo na condução de estudos com várias abordagens na fisiologia de plantas, apresentando vantagens em relação ao uso de *Arabidopsis*. Entre muitas variedades de tomateiro, a Micro-Tom foi reconhecida como uma cultivar modelo para pesquisa

porque compartilha algumas vantagens importantes com *Arabidopsis* (Martí et al., 2006; Carvalho et al., 2011a), incluindo tamanho pequeno, ciclo de vida curto e capacidade de crescer sob luzes fluorescentes em alta densidade de cultivo (Shikata et al., 2016). Além disso, tem sido visto que quando o alvo é estudar as transformações que ocorrem em frutos climatéricos carnosos/suculentos, o tomateiro tem se mostrado um modelo que tem permitido compreender os fatores que regulam a carotenogênese e o metabolismo de outros compostos secundários presentes nos frutos, além da de outras partes, tais como folhas e raízes (Bianchetti et al., 2018; Mannucci et al., 2020).

O tomateiro é a cultura hortícola mais importante economicamente usada como modelo para estudar a biologia das plantas e, particularmente, o desenvolvimento de frutos. Por apresentar um padrão de crescimento diferente da *Arabidopsis*, como também arquitetura de copa, tipo de folhas compostas e uma grande variação de atributos físicos, físico-químicos e bioquímicos ao longo de todo desenvolvimento, o tomateiro tem sido usado para compreender diferentes formas de estímulos do ambiente. Estas respostas redirecionam o metabolismo da planta que, dependendo da cultivar e do tipo de estresse, conduz ao aumento dos açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, havendo uma diminuição da síntese de compostos secundários (Quinet et al., 2019).

Um dos aspectos que tem sido alvo de investigação é a maneira como tal cultura percebe a luz e responde do ponto de vida de crescimento inicial, alocação de fotoassimilados e reprodução. Estudos com *Arabidopsis* nem sempre podem ser extrapolados. Assim, o estudo dos mecanismos de percepção à luz e de evitação da sombra no tomateiro se configura em um modelo com respostas mais claras, pois possui entrenós responsivos à sombra. Diante dos demais modelos biológicos, o uso das variedades de tomateiro tem permitido compreender o controle genético e vários processos que afetam o desempenho, não só da própria espécie, mas de outras que apresentam padrão de crescimento semelhante. Em razão das características únicas, como crescimento simpático, folhas compostas e frutos suculentos (Figura 1), tal espécie passou a figurar como um modelo aceito para estudar a biologia das plantas e, principalmente, o desenvolvimento dos frutos (Shikata et al., 2016; Ara et al., 2017).

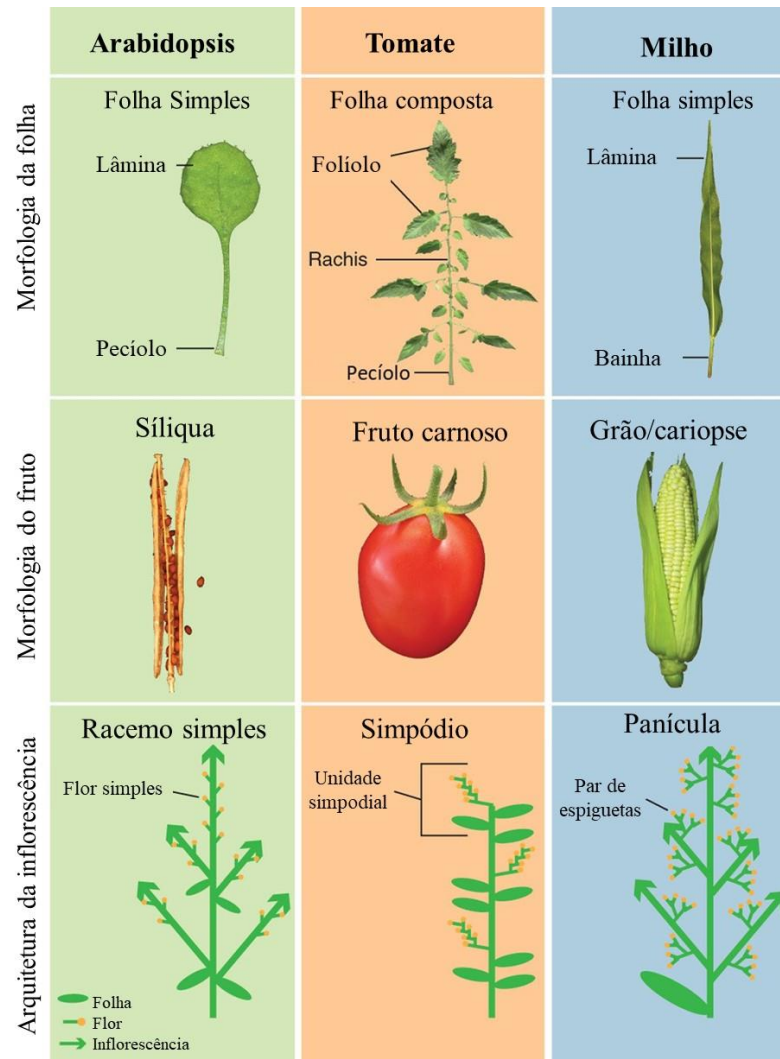


Figura 1. Comparação das características botânicas entre Arabidopsis, tomate e milho. A morfologia das folhas, a morfologia dos frutos e a arquitetura da inflorescência são diversas entre Arabidopsis, tomateiro e milho. Adaptado de Ranjan et al. (2012).

Os estudos que abordam a família de genes *ASR* (*ABA/water stress/ripening induced genes*), que foram relatados como envolvidos na resposta ao estresse hídrico, constituem uma família dinâmica de genes que fornece bom exemplo de genes agrupados que são importantes na adaptação (Fischer et al., 2011). O genoma do tomateiro codifica cinco genes *ASR*: *ASR1*, 2, 3 e 5 codificam proteínas de baixo peso molecular, enquanto o *ASR4* codifica um polipeptídeo de 297 resíduos (Golan et al., 2014). Embora sendo reportada para diversas espécies de plantas, a família de genes *ASR* está ausente em Arabidopsis (Frankel et al., 2006), o que representa uma vantagem para o tomateiro, sobretudo, em estudos direcionados

para estresse abiótico. Por outro lado, o gene *HFR1* (*LONG HYPOCOTYL IN FAR RED 1*), que é um importante regulador negativo da sombra em *Arabidopsis*, não está presente no genoma do tomateiro (Bush et al., 2015).

A definição do tomateiro como modelo biológico ainda está avançando. Os estudos podem trazer muitas contribuições para compreensão das respostas de plantas às pragas e doenças, bem como estresses abióticos (Sant'ana e Lefsrud, 2018). Neste sentido, a genética e o melhoramento de plantas são ferramentas importantes para aumentar a produtividade das culturas agrícolas mediante desenvolvimento de variedades aprimoradas. Por esta razão, conhecer sequências genômicas de outras espécies de plantas, além de *Arabidopsis*, é importante para elucidar questões acerca da função e evolução do genoma e para aplicação dessas informações na resolução dos problemas práticos do aumento da qualidade e rendimento econômicos e agrícolas (Ranjan et al., 2012; Legris et al., 2019).

Adicionalmente, a absorção e a detecção da luz dependem da arquitetura da planta. *Arabidopsis* tem sido amplamente utilizada como uma espécie modelo para o estudo de respostas à luz em plantas (Casal, 2012). No entanto, sua arquitetura monopodial a limita como um sistema modelo (Schrager-Lavelle et al., 2016). Um dos principais aspectos é a compreensão da função desempenhada pela família do fitocromo na evitação à sombra, pois não se sabe completamente quais desses fitocromos são determinantes para o alongamento do entrenó (Ballaré e Pierik, 2017). Com isso, questiona-se a extensão da aplicabilidade da família do fitocromo de *Arabidopsis* como modelo para outras culturas, sobretudo quando se evidencia a arquitetura das plantas (Ranjan et al., 2012).

Para aprofundar a compreensão dos mecanismos que controlam as características do tomateiro, os mutantes desempenham uma função considerável na elucidação das respostas aos estímulos de natureza biótica e abiótica. Para compreender a mediação da qualidade/quantidade de luz e a síntese de auxinas em tomateiro, alguns mutantes têm sido investigados. O mutante *diageotropica* (*dgt*) apresenta baixa responsividade à auxina (Oh et al., 2006), hormônio-chave nas respostas de plantas sombreadas (Iglesias et al., 2017). Ademais, mutantes *aux/iaa* (*entire*) têm baixa expressão do gene *IAA9*, o qual é mediador da auxina no processo de frutificação e morfogênese foliar (Wang et al., 2005).

A função dos fitocromos A (phyA), B1 (phyB1) e B2 (phyB2) no controle da fotomorfogênese em tomateiro vem sendo pesquisada usando mutantes isolados portadores de lesões no gene que codifica para a apoproteína PHYA do fitocromo A (*far red insensitive - fri*) (van Tuinen et al., 1995a), assim como os mutantes que possuem lesões nos genes *PHYB1* (*temporary red insensitive - tri*) (van Tuinen et al., 1995b) e *PHYB2* (mutante *phyB2*) (Kerckhoffs et al., 1999).

Deste modo, mutantes apresentando várias características fenotípicas diferentes permitem compreender as interações fisiológicas entre fitocromos. Tal abordagem é mais aplicável não somente para o tomateiro, mas para outras culturas que compartilhem características de crescimento, desenvolvimento e arquitetura de planta entre outras.

2.2. Sombreamento e a modulação da resposta pelos fitocromos

As plantas desenvolveram ao longo da evolução mecanismos de resposta aos estímulos do ambiente que garantem sobrevivência com uso eficiente dos recursos naturais disponíveis. A recepção da luz disponível pelas plantas no ambiente é modificada pela presença de vegetação ao redor, gerando sinais que são percebidos pelos fotorreceptores. Tais sinais causam grandes mudanças morfológicas e funcionais, incluindo, em *Arabidopsis*, aumento do hipocótilo e pecíolos, posição mais ereta das folhas e florescimento precoce (Casal, 2013, 2012).

Em tomateiro, foram caracterizados cinco genes do fitocromo *PHYA*, *PHYB1*, *PHYB2*, *PHYE* e *PHYF* (Pratt et al., 1997). Recentemente, foi demonstrado que durante a transição da escotomorfogênese para a fotomorfogênese em plântulas de tomateiro, o fitocromo A (phyA) desempenha uma função importante, participando da regulação do fluxo de carbono mediante as principais vias metabólicas primárias, como glicólise, beta-oxidação e ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), ressaltando-se que a maioria dos fitocromos é ativada pela luz vermelha e desativada pela luz vermelho extremo, todavia, o phyA responde a ambos. Além disso, o phyA está envolvido na atenuação do crescimento radicular logo após a plântula atingir a luz (Carlson et al., 2019). O fitocromo B (phyB) é uma proteína fotorreceptora-chave utilizada pelas plantas na detecção da proximidade de outras plantas (de Wit et al.,

2016b). A luz vermelha ativa o phyB, gerando phyve, forma fotorreceptora ativa, enquanto a luz vermelho extremo fotoconverte phyve de volta à forma inativa phyv (Carvalho et al., 2011b).

Os fitocromos são sintetizados na forma biologicamente inativa V (phyv), que apresenta uma absorbância máxima em luz vermelha (660 nm), e se fotoconverte na forma capaz de absorver a luz vermelho extremo VE (phyve), que possui uma absorbância máxima em luz vermelho extremo (730 nm) (Figura 2) (Carvalho et al., 2011b). Sob condições de luz natural, há um fotoequilíbrio dinâmico entre phyve e phyv, sendo a relação entre estas duas formas, importante sinalizador das alterações luminosas do meio para as plantas (Franklin e Quail, 2010). Durante o dia, sob a luz do sol, a proporção de V:VE é de aproximadamente 1,15 (quase não se observou variação, mesmo em épocas e condições ambientais diferentes), enquanto que sob o dossel da vegetação, essa proporção é de aproximadamente 0,05-0,7 (Smith, 1982). Para ser considerada a condição de sombra, a proporção de V:VE deve ser menor que 1,0 (Jaillais e Chory, 2010).

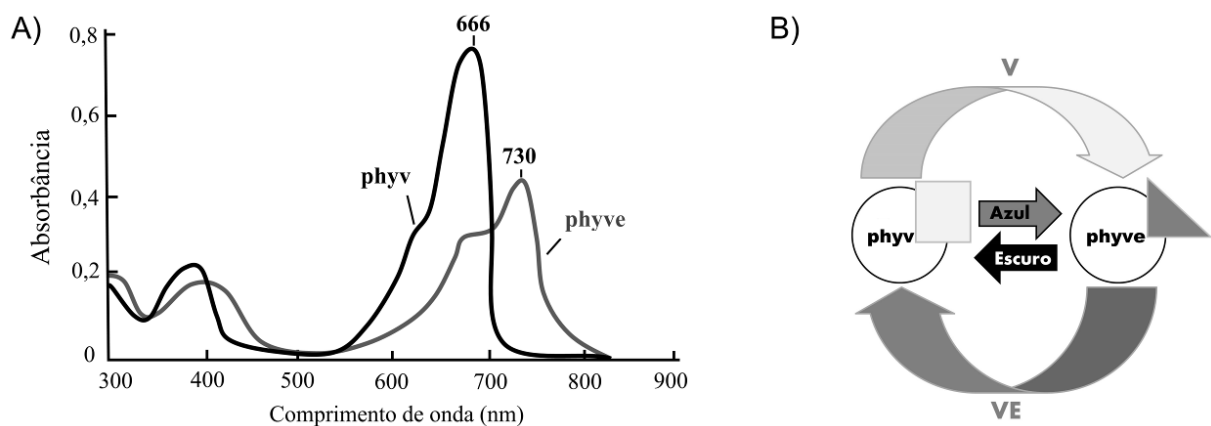


Figura 2. (A) Absorção luminosa dos fitocromos purificados nas formas phyv e phyve. (B) A fotoconversão da forma do fitocromo phyv a phyve é induzida por comprimentos de onda do vermelho (V) e por luz azul, e a reversão de phyve a phyv é induzida por comprimentos de onda do vermelho extremo (VE) e também pelo escuro. Modificado de Kerbauy (2019).

Ao detectar mudanças na relação V:VE, as plantas são capazes de reconhecer o sombreamento de outras plantas e avaliar a proximidade entre elas. Quando essa relação é baixa, desencadeia respostas de evitação à sombra, que incluem a aceleração do alongamento de caule e pecíolo e orientação fototrópica em

direção a áreas onde a relação V:VE é alta (Ballaré, 2017; Roig-Villanova e Martínez-García, 2016). As referidas mudanças fazem parte das respostas às alterações na qualidade da luminosidade percebida pelas plantas sob condição de sombreamento a qual é denominada de síndrome de evitação à sombra – SES (*Shade-avoidance syndrome – SAS*) (Tabela 1) (Ballaré e Pierik, 2017). A luz filtrada por intermédio das folhas de plantas mais altas é rica em luz vermelho extremo. Esses feixes, ricos em luz vermelho extremo, desencadeiam respostas na promoção do alongamento do hipocótilo, auxiliando as plantas mais baixas a sobrepor plantas vizinhas e retornar à luz solar plena. Atualmente, conhece-se que os fotorreceptores da luz vermelha phyA e phyB participam da SES. Em ambientes ricos em luz vermelha extremo, o equilíbrio entre phyB fotoativado e phyA determina a extensão do alongamento do hipocótilo (Martínez-García et al., 2014).

Tabela 1. Parâmetros característicos das respostas de plantas à síndrome de evitação à sombra (SES).

Parâmetro	Resposta
Crescimento	Extensão acelerada do entrenó com massa específica reduzida do caule
Desenvolvimento foliar	Atrasado, resultando em folhas mais finas com área foliar menor que exhibe senescência precoce; desenvolvimento de plastídios e síntese de clorofila e retardados; redução dos teores de antocianinas em folhas imaturas
Dominância apical	Reforçada, ramificação inibida
Floração	Acelerada
Distribuição de fotoassimilados	Marcadamente alterado o armazenamento; relação fonte dreno reduzida à custa dos caules

Fonte: Adaptado de Thomas et al. (2017).

Após ativados pela luz vermelha, o fitocromo migra do citosol para o núcleo, onde interage com os fatores de interação do fitocromo (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS – PIFs), regulador negativo da atividade dos fitocromos (Lorrain et al., 2007) (Figura 3). Apenas três destas proteínas que interagem com fitocromos estão inegavelmente envolvidas no controle da SES: PIF4, PIF5 e PIF7,

os quais estão associados à síntese de auxinas, incluindo giberelinas, brassinosteróide, jasmonato e etileno (Leivar e Monte, 2014; Legris et al., 2019). O tomateiro possui oito fatores de interação com fitocromo (PIFs): *SIPIF1a*, *SIPIF1b*, *SIPIF3*, *SIPIF4*, *SIPIF7a*, *SIPIF7b*, *SIPIF8a* e *SIPIF8b*. Dos oito loci, o *SIPIF4* mostrou padrões de expressão semelhantes aos dos homólogos de *Arabidopsis*, sugerindo apresentarem funções semelhantes (Rosado et al., 2016).

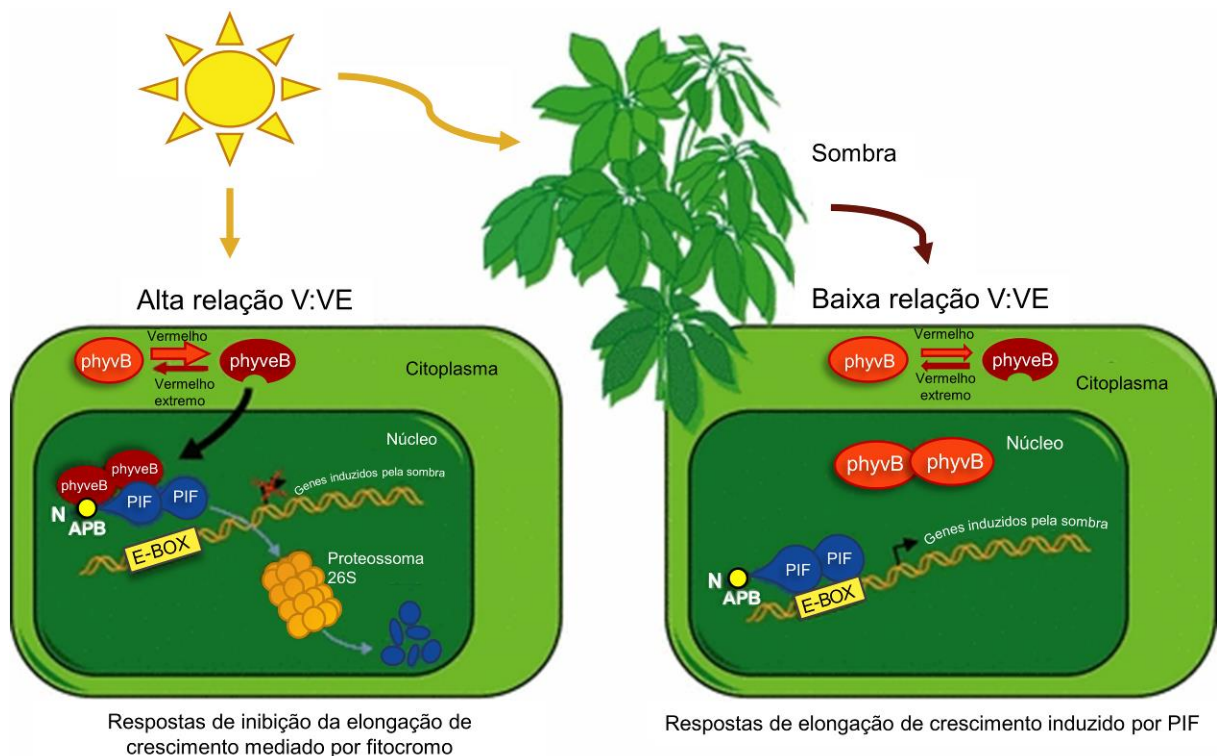


Figura 3. (A) Sob luz, o phyB está principalmente na forma phyve. A forma phyve se acumula no núcleo onde interage com os PIFs. Essa interação tem como alvo a degradação das proteínas PIF por meio do proteossoma 26S, levando à desativação de genes induzidos pela sombra. (B) Sob um dossel, a luz filtrada ou refletida pela vegetação vizinha é enriquecida pela luz VE, e o phyB é convertido em sua forma phyv, que não interage mais com as proteínas PIF. Assim, essas proteínas são acumuladas rapidamente, promovendo a expressão de genes que direcionam respostas para evitar a sombra. Adaptado de Lorrain et al. (2007).

As elucidações de como e quais fitocromos estão envolvidos na SES ocorreram principalmente por meio do uso de ferramentas moleculares, tais como mutantes defectivos na biossíntese do fitocromo. De fato, tem sido mostrado que mutantes deficientes na produção da apoproteína do phyA, tais como de *Arabidopsis* e tomateiro, exibem exagerado alongamento do hipocótilo em condição de baixa

V:VE (Nagatani et al., 1993; Parks e Quail, 1993; Whitelam et al., 1993; van Tuinen et al. 1995a), ao passo que mutantes na biossíntese da apoproteína de phyB, quando crescido em aumentado V:VE, expressam respostas inerentes à SES (López-Juez et al., 1990; Nagatani et al., 1991; Somers et al., 1991). Ademais, mutantes deficientes na biossíntese do cromóforo, sendo desta forma deficiente na biossíntese de todos os tipos de fitocromos, manifestam natural característica alongada e clorótica, as quais são encontradas durante a SES (Muramoto et al., 2005).

Entretanto, a reduzida capacidade das plantas cultivadas em responder ao sombreamento é apontada como resultado do processo de seleção de espécies visando maior biomassa e rendimento de produção, o que é antagônico ao observado em espécies que respondem onde é priorizado o alongamento paralelamente a uma redução na atividade fotossintética local (Cagnola et al., 2012; Bush et al., 2015). A compreensão da SES é importante não somente do ponto de vista fisiológico, mas também genético e transcricional. Mesmo que a maior parte dos estudos tenha sido realizado com *Arabidopsis*, o desenvolvimento de cultivares tolerantes à sombra permitirá cultivos mais adensados sem reduzir o rendimento.

Além do mais, são muito fortes as evidências da participação dos fitocromos na sinalização de resposta aos estresses bióticos e abióticos (Carvalho et al., 2011b). A baixa relação V:VE reduz a defesa vegetal, modulando as vias de defesa do ácido jasmônico e do ácido salicílico (Ballaré, 2017). Sob efeito de estresse salino, mudas de tomateiro e tabaco apresentam impedimento ao alongamento, resposta de evitação à sombra (Hayes et al., 2019). Além disso, foi evidenciado em tomateiros mutantes *phyA*, *phyB1* e *phyB2* sob luz natural que fitocromos podem atuar na resposta ao estresse abiótico, sendo *phyB1* e *phyB2* importantes na via de sinalização agindo como reguladores negativos de crescimento e manutenção de pigmentos (Gavassi et al., 2017).

2.3. Auxinas e as respostas das plantas ao sombreamento

As auxinas são bem conhecidas como o hormônio do crescimento das plantas devido à sua capacidade de estimular o crescimento diferencial em resposta

a estímulos luminosos ou da gravidade (Thomas et al., 2017). Tem sido considerado como participante-chave no ajuste da morfologia das plantas frente ao desafio imposto pelas condições ambientais bastante variáveis. As respostas de evitação à sombra, incluindo incremento do crescimento de caule e pecíolo, hiponastia foliar e inibição de ramificação estão profundamente relacionadas com a sinalização da luz e das auxinas (Iglesias et al., 2017).

As auxinas são reguladores-chave de praticamente todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, da embriogênese à senescência, regulando estes eventos por meio do controle da expressão gênica mediante a família de fatores de resposta à auxina, as chamadas proteínas ARFs (*AUXIN RESPONSE FACTORS*), os quais são específicos do reino vegetal e foram identificados nos genomas de diferentes espécies vegetais controlando a expressão de genes-alvos em resposta à auxina (Ma e Li, 2019).

As respostas das plantas à baixa relação V:VE envolvem alterações na sinalização hormonal. Em *Arabidopsis*, o fator de transcrição PIF7 é acumulado na sua forma desfosforilada à sombra, induzindo a expressão de genes responsáveis pela biossíntese das auxinas. Isto indica que a percepção de um sinal de mudança na qualidade da luz conduz diretamente a uma resposta rápida no crescimento mediante uma via regulada por PIF7 (Li et al., 2012) (Figura 3). Mais recentemente, PIF vem sendo investigado em tomateiro (Rosado et al., 2016), sugerindo que PIF4 desempenha a mesma função que em *Arabidopsis* (Rosado et al., 2019).

O ácido indol-3-acético (AIA) é conhecido como a principal auxina das plantas, possuindo diferentes rotas biossintéticas, dependente ou independente do aminoácido triptofano. No entanto, a grande parte do AIA que existe nas plantas é biossintetizado de triptofano, a qual é dividida em quatro vias paralelas (Muller e Weiler, 2000; Mano e Nemoto, 2012), porém a via do ácido indolil-acético-3-piruvato (IPA) é considerada como a principal via biossintética da auxina durante a evasão da sombra (Mashiguchi et al., 2011). As auxinas são únicas entre os hormônios vegetais por apresentar transporte polar e desempenhar importante função fundamental no desencadeamento da evitação à sombra (Ma e Li, 2019). Além de promover o alongamento celular, as auxinas controlam outros aspectos das respostas ao sombreamento, como o crescimento reduzido de folhas e raízes,

coordenando o crescimento das plantas em baixa relação V:VE (Zažímalová et al., 2014).

De fato, evidências têm atribuído à auxina uma importante função no controle dessas respostas. Por exemplo, mutantes de *Arabidopsis* deficientes na biossíntese, sensibilidade ou transporte de auxinas não desencadearam a SES (Tao et al., 2008; Keuskamp et al., 2010). De acordo com isso, foi mostrado que a redução em V:VE aumentou as concentrações de auxina em *Arabidopsis* (Ugarte et al., 2010; Hornitschek et al., 2012). Além disso, os mutantes *pif4* e *pif5*, defectivos para síntese de PIF4 e PIF5, família de fatores de transcrição envolvidos na sinalização dos fitocromos, reduziram em *Arabidopsis* a expressão dos genes *YUCCA 8* (*YUC8*), os quais codificam para aminotransferases e monooxigenases, classes de importantes enzimas da via de biossíntese das auxinas dependente de triptofano. Similarmente, o mutante *pif7* mostrou reduzida indução de *YUC2*, *YUC5* e *YUC8* sob baixa V:VE. Estes resultados fortemente indicam que o controle dos níveis endógenos de auxinas é dependente da sinalização luminosa mediada por fitocromos em respostas de SES. Nesse sentido, tem sido mais evidente a interação das auxinas com os fitocromos desde o processo germinativo das sementes ao florescimento (Park et al. 2007; Carvalho et al. 2010b; Halliday et al. 2009).

Reguladores sintéticos são utilizados visando controlar eventos governados pelos hormônios. Alguns agem como inibidores do transporte das auxinas, entre eles estão o NPA (ácido 1-N-naftilftalâmico) e o TIBA (ácido 2,3,5- triiodobenzóico). O NPA é um inibidor polar do transporte de auxina que bloqueia o efluxo de auxina mediado pelas proteínas PIN e PGP (Teale e Palme, 2017). No tratamento com esse regulador, espera-se que as auxinas se acumulem nos locais de síntese, o que torna o NPA uma ferramenta muito valiosa para identificar esses locais. Contudo, deve-se considerar que os efeitos dos inibidores do transporte polar das auxinas dependem das espécies vegetais e/ou fase de crescimento (Saniewski et al., 2014).

2.4. Interação dos fitocromos e auxinas nas respostas das plantas ao sombreamento

Os fitocromos exercem importante função na resposta ao sombreamento, tendo como elemento central os PIFs, os quais são fatores básicos de transcrição que se ligam à forma ativa de phyB no núcleo. Como resultado desta interação, são rapidamente fosforilados e, em seguida, degradados no proteossoma (Leivar e Monte, 2014). A baixa relação V:VE diminui a atividade do phyB promovendo o acúmulo de PIF4 e PIF5 (Legris et al., 2019). No entanto, como phyA é primordial para desestibulação das plântulas/plantas que crescem em ambientes com baixa V:VE, e por phyA só se ligar a PIF1 e PIF3, acredita-se que este fitocromo não utilize a mesma via de sinalização ajustante (Yang et al., 2018). Contudo, o aumento da atividade dos PIFs resulta na ativação direta da expressão do gene YUCCA, relacionada à biossíntese de auxinas e de outros genes que regulam o crescimento do caule (Hornitschek et al., 2012) (Figura 3).

É evidente que a luz afeta os teores de auxina nos mais diversos mecanismos, regulando síntese, transporte e sinalização, modulando os genes envolvidos nestes processos (Iglesias et al., 2017). Sob baixa relação V:VE, os fatores de transcrição bHLH, PAR1 e PAR2 (PHYTOCHROME RAPIDLY REGULATED) promovem uma regulação negativa da expressão de genes induzíveis pelas auxinas e o fator HFR1 (LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED1) também diminui a expressão de IAA29 (Halliday et al., 2009).

Mutações que afetam a síntese, transporte ou percepção de auxinas impedem a promoção do crescimento de hipocótilo devido à baixa relação V:VE (Tao et al., 2008; Keuskamp et al., 2010). A baixa relação V:VE conduz ao aumento dos níveis de AIA livre em plântulas, a expressão de genes associados ao transporte de auxina, como PIN-FORMED 3 (PIN3) e PIN7, e os genes dos fatores de transcrição induzidas por auxina ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO INDUZÍVEL 1 (IAA1), IAA3, IAA5, IAA11 e IAA19, entre vários outros genes relacionados à auxina em *Arabidopsis* (Devlin et al., 2003; Keuskamp et al., 2010) (Figura 4).

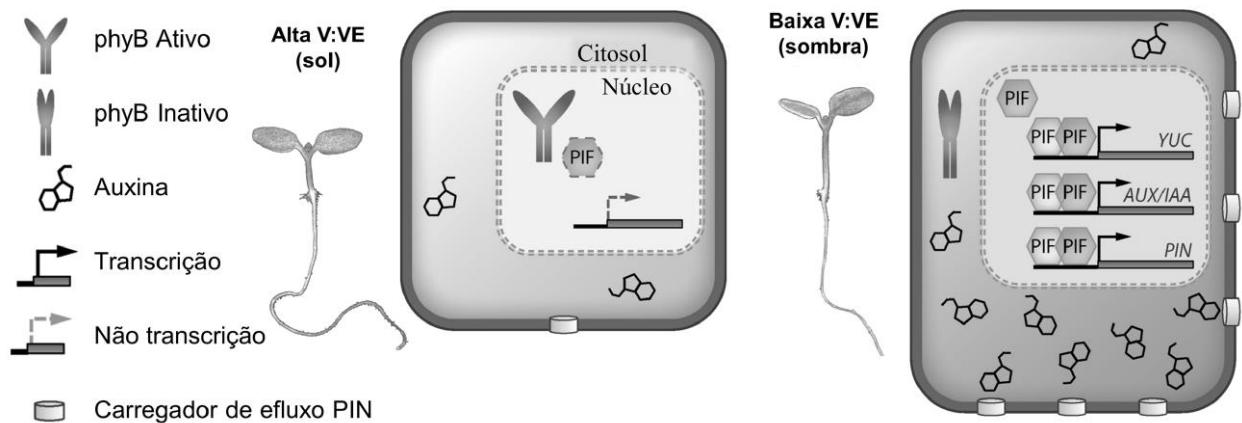


Figura 4. Sinalização de evitação a sombra. Fitocromo B (phyB) é ativado sob um alta razão vermelho/vermelho extremo (V:VE) e é translocado para o núcleo, onde se inativa o PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4 (PIF4), PIF5 e PIF7 e, assim, inibe a transcrição dependente de PIF. Sob baixa razão V:VE, phyB é inativado, o que permite que os PIFs se acumulem, regulando a transcrição dos seus alvos a jusante. Entre estes estão vários genes relacionados com à auxina, resultando no aumento da concentração de auxina na célula mediante a transcrição de YUCCA (genes *YUC*), as mudanças nos genes da sinalização de auxina (AUXINA/ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO INDUZÍVEL - AUX/IAA), e aumento do transporte da auxina mediante de proteínas PIN- FORMED (PIN). Este processo conduz finalmente a célula ao alongamento, por exemplo, nos hipocótilos de plântulas de *Arabidopsis*. Adaptado de Wit et al. (2016a).

Dessa forma, a resposta à auxina está intrinsecamente associada aos fatores de transcrição para percepção da baixa razão V:VE da luz, resultando na resposta de evitação à sombra. Nesta condição, o PIF7 influencia a expressão do gene *YUC*, que codifica uma enzima envolvida na biossíntese de auxina dependente de triptofano. Assim, HFR1, PAR1 e PAR2 parecem ser importantes para moderar a cascata de sinalização de auxina e a resposta fisiológica à baixa razão V:VE da luz (Yang e Li, 2017).

Em tomateiro, foi realizado estudo comparativo da morfologia das folhas do tomate domesticado e de parentes selvagens: *S. lycopersicum* 'M82' (tomate domesticado) e *S. pennellii* LA0716 cultivadas sob condições com razão de V:VE alta e baixa. Verificou-se que *S. pennellii* tem uma resposta exagerada para evitar a sombra em comparação com o tomate domesticado, caracterizado por maiores comprimentos de internódios e pecíolos, estando relacionado ao aumento da expressão de AXR (AUXIN RESISTENT), IAAs (INDOLE-3-ACETIC ACID

INDUCIBLEs) e ARFs (AUXIN RESPONSE FACTORs), bem como níveis aumentados de transcrição de homólogos de citocinina oxidase (Chitwood et al., 2015).

Cagnola et al. (2012) também reportaram que, em resposta à sombra, os genes de resposta à auxina em tomateiro (*S. lycopersicum* “La Germinadora”) são regulados positivamente nos internódios, em comparação com as folhas. Todavia, evidenciam que isso não implica aumento da síntese de ácido indol-3-acético (AIA) nos respectivos órgãos. Ademais, avaliaram o efeito do sombreamento na capacidade fotossintética destes órgãos e constataram que os genes do Ciclo de Calvin são diminuídos no tecido do caule, acompanhado de concentração de clorofila do caule, carotenoide e ácido jasmônico reduzidos.

É importante salientar que o estudo das alterações nas vias hormonais em plantas tem mostrado que as respostas das plantas à sombra necessitam da participação de vários hormônios, além das auxinas, como as giberelinas (GA) e os brassinoesteroides (BR), estando funcionalmente condicionado ao alongamento celular quando sob condição de baixa relação V:VE (Kozuka et al., 2010; Ruzza et al., 2014; de Wit et al., 2016a; Yang e Li, 2017; Krahmer et al., 2018), bem como à participação de outros fotorreceptores: criptocromos (cry) e UVR8, que parecem dividir o controle dessa grande e complexa rede de sinalização (Hayes et al., 2014; de Wit et al., 2016b; Pedmale et al., 2016; Fraser et al., 2016; Franklin, 2016; Xu et al., 2018).

No contexto do exposto acima, faz-se necessário conjecturar que a importante função das auxinas na SES é dependente da sinalização da família de phyA e phyB. De fato, os fatores separadamente modulam a SES, mas se as auxinas são parte da sinalização de phyA, phyB1 e phyB2 muito ainda é necessário explorar.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Fornecidos pelo Prof. Lázaro Eustáquio Pereira Peres, da Esalq-USP, foram utilizados mutantes de tomateiro com baixa e alta sensibilidade à auxina *diageotropica* (*dgt*) (Oh et al., 2006) e *entire* (*e*) (Wang et al., 2005), respectivamente, presentes na cultivar Micro-Tom (MT) (Carvalho et al., 2011a; Silva et al., 2018a) que, ausente da mutação, foi utilizada como controle. Ainda foi utilizado MT transformado (*DR5::GUS*) para dirigir a expressão do gene marcador da β -glucuronidase (GUS) dirigido pelo promotor DR5, o qual é específico para auxinas, cedido pelo Prof. Luciano Freschi, do Instituto de Biociências da USP-São Paulo. Além disso, fez-se uso dos mutantes defectivos para a biossíntese de phyA (*far red insensitive - fri*, *phyA*), phyB1 (*temporary red insensitive - tri*, *phyB1*) e phyB2 (*phyB2*), os quais foram obtidos a partir do “Tomato Genetics Resource Center” (TGCR; Davis – Califórnia) presentes na cultivar Moneymaker (MM) (van Tuinen et al., 1995a; van Tuinen et al., 1995b; Kerckhoffs et al., 1999) que, ausente da mutação, foi utilizado como controle.

3.2. Condições de crescimento e indução da SES

As sementes foram germinadas em potes plásticos com capacidade de 250 mL, contendo 20 g de uma mistura na proporção de 1:1 (v/v) de substrato comercial (Bioplant, Brasil) e vermiculita umedecida com 20 mL de água deionizada. Em seguida, os potes contendo as sementes foram levados para uma câmara tipo BOD, onde permaneceram no escuro durante três dias. Após este período, as plântulas foram mantidas por dois dias sob luz branca (ambiente controle, fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro, $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ RFA) até o completo desestiolamento. Após dois dias sob luz branca, aplicou-se o tratamento com baixa V:VE 0,119 (fotoperíodo de 16 horas, $24,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ RFA) mantendo-se, também, o ambiente controle onde as plântulas permaneceram por mais cinco dias em temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2$ (Figura 5). A rega foi realizada diariamente adicionando-se 5 mL de água em cada pote.

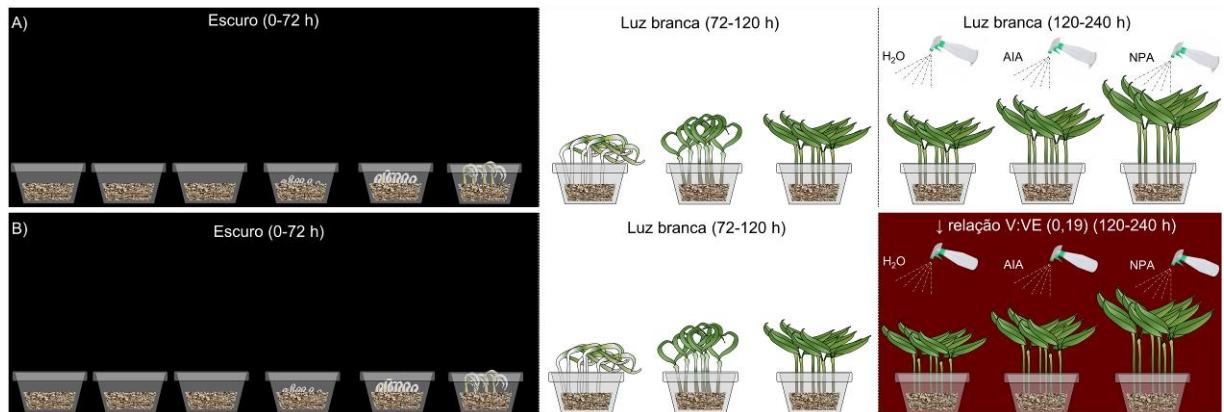


Figura 5. Representação dos ambientes de germinação, crescimento e desenvolvimento das plântulas de tomateiro. Sementes foram germinadas três dias no escuro (72 h). Em seguida, as plântulas foram transferidas para luz branca, onde permaneceram por mais dois dias (48 h) até completo desestiolamento com fotoperíodo de 16/8 h de luz e escuro. Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam suplementação com Vermelho Extremo (redução da V:VE= 0,119, fundo vermelho) por mais cinco dias (120 h), na condição controle (H_2O) e com aplicação de AIA (ácido indol-3-Acético) ou NPA (ácido-1-N-naftilftalâmico). As aplicações de AIA ou NPA foram realizadas apenas no MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*.

Com auxílio de um dimerizador, a condição luminosa foi obtida por meio de diodo emissor de luz (LED) branca (Jikatec) (Figura 6A), sendo que, para a condição de sombreamento (V:VE= 0,119), foram utilizadas duas placas de acrílico sobrepostas (uma azul e outra vermelha) e uma lâmpada halógena (A55 E27 70W 127V). Ainda na condição de sombreamento, foi acrescentado um filtro de papel celofane, de coloração amarela, para retenção da luz azul (Figura 6B). Os comprimentos de onda luminosos foram obtidos com auxílio de um espectrorradiômetro: SpectraPen LM 500-UVIS, faixa de resposta espectral 340 a 780 nm.

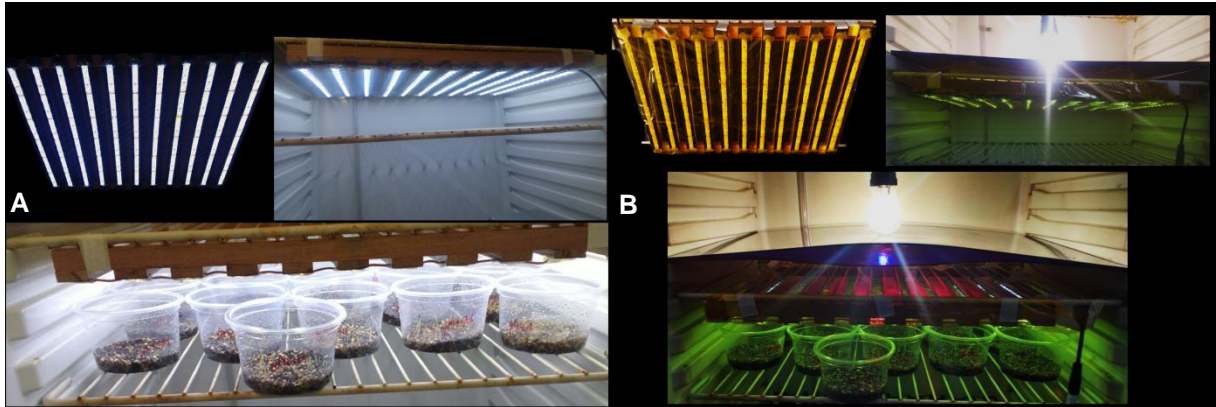


Figura 6. Câmara de germinação, crescimento e desenvolvimento com sistema de iluminação. (A) Luz branca utilizada para desestiamento e para crescimento da condição controle, (B) ambiente sombreado, com baixa razão V:VE (0,119).

3.3. Aplicação de auxina ou inibidor do transporte de auxina

No início da indução da SES, mutantes fotomorfenéticos e o MM cresceram na presença da auxina exógena, ácido indolacético (AIA) 15 μM ou do inibidor do transporte deste hormônio, ácido-1-N-naftilftalâmico (NPA) 10 μM (Kraepiel et al. 2001; Liu et al. 2011), mantendo-se também a condição controle, recebendo apenas aplicação de água (Figura 5). As aplicações (quatro) foram realizadas diariamente com auxílio de um borrifador (spray), em média 03 mL por aplicação (Figura 5). As fontes e concentrações das auxinas e do inibidor de transporte de auxina utilizados foram determinados em experimentos preliminares na cultivar MM (Figura 1A, B, C e D do Apêndice).

3.4. Análises do crescimento

O comprimento do hipocótilo e das raízes foi obtido usando uma régua graduada. Os cotilédones foram digitalizados com auxílio de scanner (HP Scanjet 3670) e, a partir das imagens, foi obtida a área cotiledonar, utilizando-se do software ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Para obtenção da massa seca, as plântulas foram mantidas em saco de papel, secas em estufa a 60°C por 72 h, e a massa seca foi determinada por meio de balança analítica (Denver Instrument Company AA-200).

3.5. Concentração de pigmentos

A quantificação de clorofilas e carotenoides foi realizada utilizando-se 25 mg de cotilédones adicionados aos tubos Eppendorf e extraídos em 2 mL de acetona (80%, v/v). Estes foram mantidos a 4°C no escuro por 48 horas. Os cotilédones foram então removidos e o extrato avaliado de acordo com Lichtenthaler (1987). Para obtenção do teor de antocianinas, foram utilizados 45 mg de hipocótilos. Os processos de extração (realizado em triplicata) e quantificação foram realizados conforme Peters et al. (1989). Todas as análises foram realizadas no final de cada experimento (plântulas com 10 dias após a semeadura - DAS) (Figura 7).

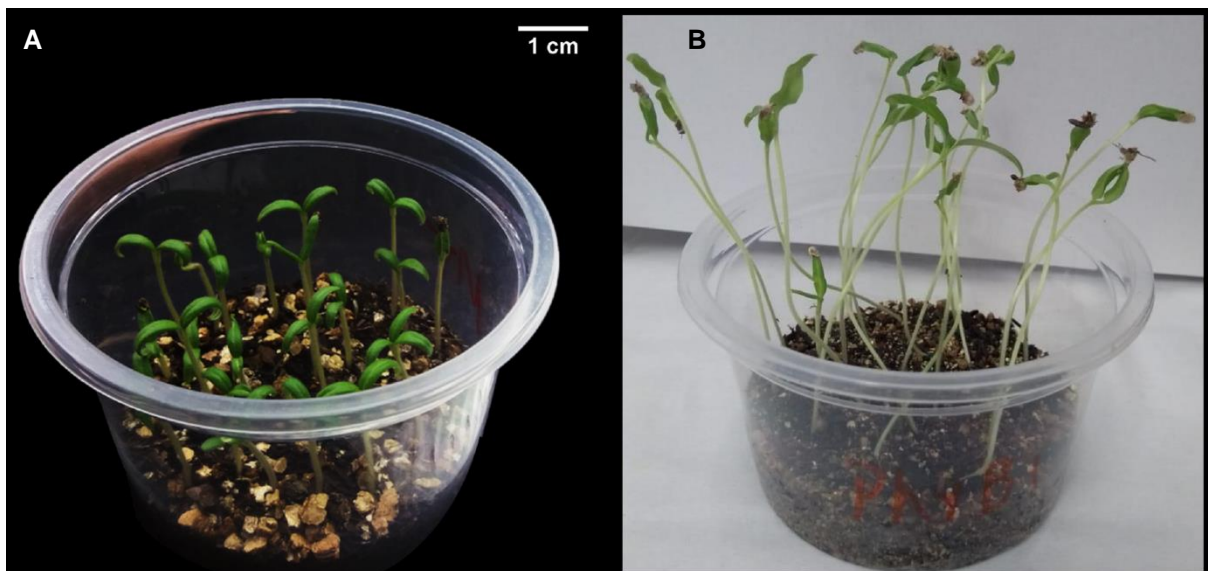


Figura 7. Plântulas de tomateiro no final do experimento, com 10 dias após a semeadura (DAS), sob luz branca (A) e baixa V:VE (B).

3.6 Ensaios Histoquímicos – Revelação do GUS

A coloração de GUS foi realizada, tal como especificado por Jefferson et al. (1987), com algumas modificações. Plântulas transgênicas *DR5::GUS* foram embebidas em uma solução de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0) contendo 10 mM de EDTA (pH 8,0), 0,1% de Triton X-100, 0,1% de sarcosil, 10 mM de 2-mercaptoetanol, 0,5 mM de ferricianeto de potássio, 0,5 mM de ferrocianeto de potássio e 1 mg mL de 5-Bromo-4-cloro-3-indolil β -D-glucuronido (X-GLUC) infiltrado

a vácuo e incubado a 37°C. A reação foi interrompida com a transferência das plântulas para um tubo contendo etanol 70% (v/v), após 12 horas de incubação. As plântulas permaneceram por mais 96 horas em etanol (trocado a cada 24 horas), em temperatura ambiente para retirada de toda clorofila.

3.7 Quantificação de auxina hipocotilar

Os níveis endógenos de ácido indolacético (AIA) foram determinados por cromatografia gasosa - monitoramento por íons de seleção por espectrometria de massa em tandem (GC-MS-SIM), conforme descrito por Cruz et al. (2018). Os hipocótilos congelados de tomateiro (aproximadamente 100 mg de massa fresca - MF) foram triturados em nitrogênio líquido e homogeneizados com 1 mL de isopropanol: ácido acético (95:5, v/v). Foi adicionado precisamente 0,5 µg de [¹³C₆]-IAA (Cambridge Isotopes, Inc.) a cada amostra como padrões internos. As amostras foram incubadas a 4°C por aproximadamente 2h. Após centrifugação (4°C, 16.000 g, 20 min), o sobrenadante foi coletado e foram adicionados 100 µL de água ultrapura e 500 µl de acetato de etila. Após centrifugação (4°C, 16.000 g, 5 min), o sobrenadante foi recolhido e este passo foi repetido. O extrato foi completamente seco a vácuo e suspenso em 50 µL de metanol, seguido de uma etapa de derivatização de 30 minutos à temperatura ambiente usando 40 µL (trimetilsilil) diazometano.

A análise foi realizada com um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (modelo GCMS-QP2010 SE, Shimadzu) no modo de monitoramento seletivo de íons. Um microlitro de cada amostra foi injetado automaticamente (modelo AOC-20i, Shimadzu) no modo sem divisão, usando hélio como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 4,5 mL min⁻¹ por meio de uma coluna capilar de sílica fundida (30 m, 0,25 mm ID, Película interna de 0,50 µm de espessura). Fase estacionária DB-5 MS no seguinte programa: 2 min a 100°C, seguido de gradientes de 10°C min⁻¹ a 140°C, 25°C min⁻¹ a 160°C, 35°C min⁻¹ a 250°C, 20°C min⁻¹ a 270°C e 30°C min⁻¹ a 300°C. A temperatura do injetor foi de 250°C e foram utilizados os seguintes parâmetros operacionais do MS: tensão de ionização, 70 eV (ionização por impacto eletrônico); temperatura da fonte de íons,

230°C; e temperatura da interface, 260°C. Os íons com uma razão de massa/carga (m/z) de 130 e 189 (correspondendo ao AIA endógeno) e 136 e 195 (correspondendo a [¹³C₆]-IAA) foram monitorados. As concentrações endógenas foram calculadas com base em cromatogramas extraídos a m/z 130 e 136.

3.8 Delineamento experimental e tratamento estatístico

Foram realizados quatro experimentos em delineamento inteiramente casualizado, a partir dos seguintes ensaios fatoriais. Experimento 1 - 3 Cultivares (MT x *dgt* x *e* x 2 Ambientes (luz branca e baixa V:VE); Experimento 2 - 2 Cultivares (MM x *phyA*) x 3 Aplicações exógenas (Controle - AIA - NPA) x 2 Ambientes (luz branca e baixa V:VE); Experimento 3 - 2 Cultivares (MM x *phyB1*) x 3 Aplicações exógenas (Controle - AIA - NPA) x 2 Ambientes (luz branca e baixa V:VE); Experimento 4 - 2 Cultivares (MM x *phyB2*) x 3 Aplicações exógenas (Controle - AIA - NPA) x 2 Ambientes (luz branca e baixa V:VE). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%. Foi utilizado o Software Sisvar (Ferreira 2015).

4. RESULTADOS

4.1. Indução da SES – uso dos mutantes *dgt* e *entire*

As plântulas de *dgt* e *entire* responderam igualmente ao MT sob baixa V:VE (sombra), ou seja, mesmo os mutantes possuindo baixa (*dgt*) ou alta (*entire*) sensibilidade à auxina, essas cultivares apresentaram um maior alongamento do hipocótilo quando comparados com plântulas crescidas sob luz branca (Figura 8A e 9). O alongamento no ambiente de sombra foi de 18%, 21% e 34% a mais para MT, *dgt* e *entire*, respectivamente, comparado cada cultivar sob luz branca. Observou-se ainda que a diferença entre as cultivares em relação ao alongamento do hipocótilo foi encontrada apenas para o *entire* em relação ao MT e ao *dgt* nos dois ambientes (luz e sombra) (Figura 8A e 9).

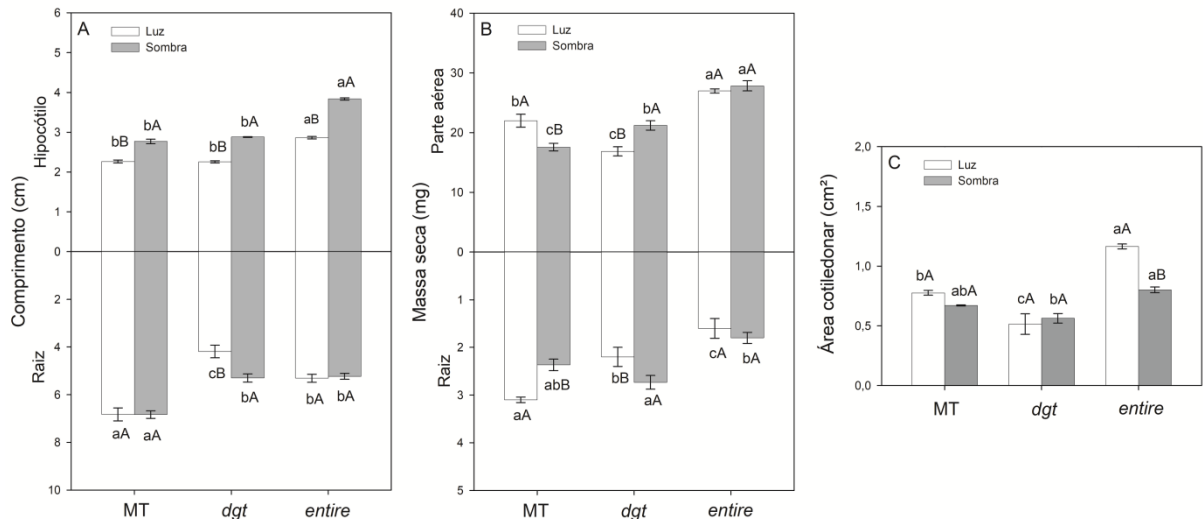


Figura 8. Comprimento do hipocótilo e raiz (A), massa seca de parte aérea e de raiz (B) e área cotiledonar (C) de plântulas de tomateiro MT, *dgt* e *entire*, germinadas no escuro (três dias) e desestioladas (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (Sombra) por mais cinco dias. $n = 3 \times 15$ ou $3 \times 10 \pm EP$, comprimento e massa seca e área cotiledonar, respectivamente. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre as médias, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas – compara-se cultivares no mesmo ambiente de luz; letras maiúsculas – compara-se a mesma cultivar em ambiente de luz diferente.

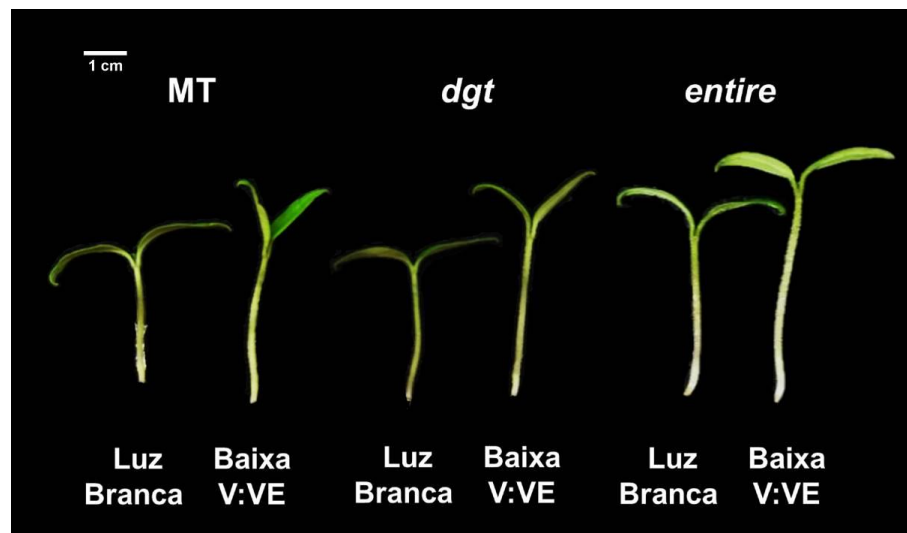


Figura 9. Fenótipos das plântulas de tomateiro MT, *dgt* e *entire*, germinadas no escuro (três dias) e desestioladas (dois dias). Após o desestiolamento, plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE por mais cinco dias.

O comprimento das raízes do MT e do *entire* não foram afetadas pela baixa V:VE não havendo, assim, diferença entre o tamanho das raízes nos dois

ambientes, comparando-se cada cultivar (Figura 8A). No entanto, observou-se um aumento significativo no comprimento das raízes das plântulas do *dgt* quando crescidas na sombra em relação às crescidas na luz branca (Figura 8A). Além disso, as mutações no *entire* e no *dgt* resultaram em uma redução significativa no comprimento das raízes quando comparadas ao MT, redução ocorrida tanto na sombra quanto na luz. Entretanto, essa redução foi maior no *dgt* crescido na luz branca, inclusive, apresentando raízes menores que o *entire* (Figura 8A), sendo que no ambiente com baixa V:VE o comprimento de raiz do *dgt* foi igual ao do *entire*.

A mutação do *entire*, além de ter resultado em maior comprimento de hipocótilo, também proporcionou maior massa seca da parte aérea (MSPA), comparado aos demais cultivares em ambos ambientes (Figura 8B). No caso do MT, o acúmulo de massa seca foi menor em condição de sombra, tanto da parte aérea quanto da raiz. No entanto, o *dgt*, ao contrário do MT e do *entire*, apresentou maior MSPA e massa seca da raiz (MSR) na condição de sombra (Figura 8B). Sendo assim, a baixa sensibilidade à auxina proporcionou ao *dgt* um melhor crescimento no ambiente de sombra, já que o MT apresentou menor MSPA e MSR sob baixa V:VE (Figura 3B). Ainda se tratando de MSR, o *entire* apresentou a menor MSR entre as cultivares nos dois ambientes (Figura 8B).

A baixa sensibilidade à auxina também garantiu ao *dgt* crescido sob luz branca uma menor área cotiledonar (AC), do contrário, a aumentada sensibilidade do *entire* resultou na maior AC entre as cultivares, seja na luz ou na sombra (Figura 8C). Contudo, a baixa V:VE não resultou em mudanças significativas na AC do MT e do *dgt*, já para o *entire* observou-se uma redução de 31% quando comparou-se com ambiente de luz.

Com relação a concentração de pigmentos fotossintéticos nos cotilédones, verificou-se que o MT e o *dgt* tiveram maior concentração de clorofila *a* (Ca) quando crescidas sob luz branca, não apresentando diferenças entre si, porém, no ambiente de sombra, houve uma redução substancial desses pigmentos (Figura 10A). Enquanto que o *entire* não mostrou diferença na concentração de Ca entre os ambientes (Figura 10A). Todavia, o conteúdo de clorofila *b* (Cb) no *entire* foi significativamente maior quando comparado ao MT e *dgt*, tanto no ambiente de luz quanto na sombra (Figura 10B).

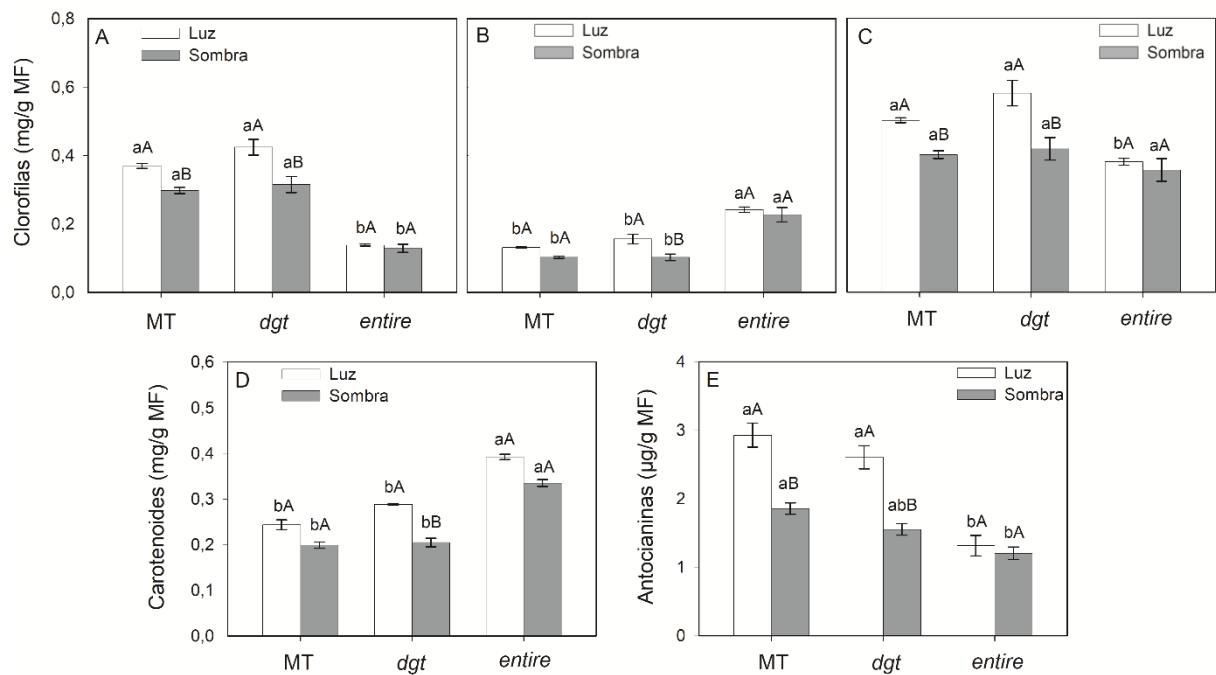


Figura 10. Concentração de Clorofila *a* (A) *b* (B), total (C), Carotenoides (D) e Antocianinas (E), de plântulas de tomateiro MT, *dgt* e *entire*, germinadas no escuro (três dias) e desestioladas (dois dias). Após o desestiolamento, plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (Sombra) por mais cinco dias. $n = 4 \times 3 \pm EP$. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre as médias, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas – compara-se cultivares no mesmo ambiente de luz; letras maiúsculas – compara-se a mesma cultivar em ambiente de luz diferente.

O ambiente de sombra parece não afetar a concentração dos pigmentos no *entire*, pois o teor de *Ca*, *Cb*, clorofila total (*Ctotal*) (Figura 10A, B e C) e carotenóides (Figura 10D) não apresentaram nenhuma mudança significativa quando se comparou os dois ambientes. Tendo o *entire* a menor concentração também de *Ctotal* comparado ao MT e *dgt* sob luz branca, visto que no ambiente de sombra não foi verificada nenhuma diferença no conteúdo destes pigmentos entre as cultivares. Contrariamente, no *entire*, o conteúdo de carotenóides nos cotilédones foi maior que os do *dgt* e do MT (na luz e na sombra) (Figura 10D). Tanto MT quanto *dgt* tiveram seus teores de carotenoides reduzidos em função da baixa V:VE, não apresentando diferenças entre si.

A baixa sensibilidade à auxina no *dgt* não resultou em diferenças quanto ao conteúdo de antocianinas hipocotilar comparado ao MT, contrariamente, a mutação

no *entire* resultou em uma redução de 65% e 49%, comparado ao MT e *dgt* sob luz branca, respectivamente (Figura 10E). Quando crescidas na sombra, as plântulas de *dgt* e MT tiveram seu conteúdo de antocianinas reduzido quando comparados ao ambiente de luz, o que mais uma vez não ocorreu com o *entire*, pois a baixa V:VE não resultou em nenhuma mudança significativa na concentração de antocianinas hipocotilar desse mutante (Figura 10E). Sob o ambiente de sombra, só foi observada diferença na concentração de antocianinas entre MT e *entire*.

4.2 Ensaios Histoquímicos – Revelação do GUS

Para estudar melhor a expressão espacial das auxinas, foi utilizado o MT transformado para dirigir a expressão do gene marcador da β -glucuronidase (GUS) dirigido pelo promotor DR5, o qual é específico para auxinas (Silva et al., 2018b). Com isso, foi possível verificar que em plântulas crescidas sob baixa V:VE ocorreu maior expressão das auxinas ao longo de todo hipocótilo e cotilédones (Figura 11). Nas raízes, essa expressão ocorre de forma semelhante nas plântulas crescidas, quer seja na luz branca ou na baixa V:VE, estando localizada no ápice das raízes.

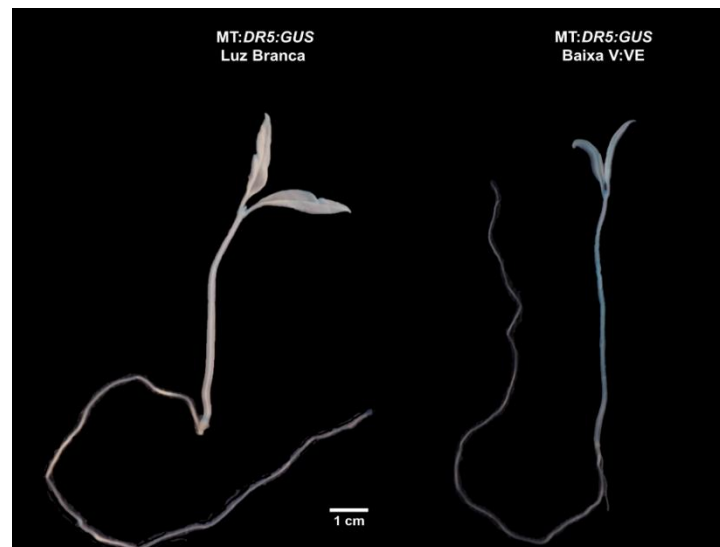
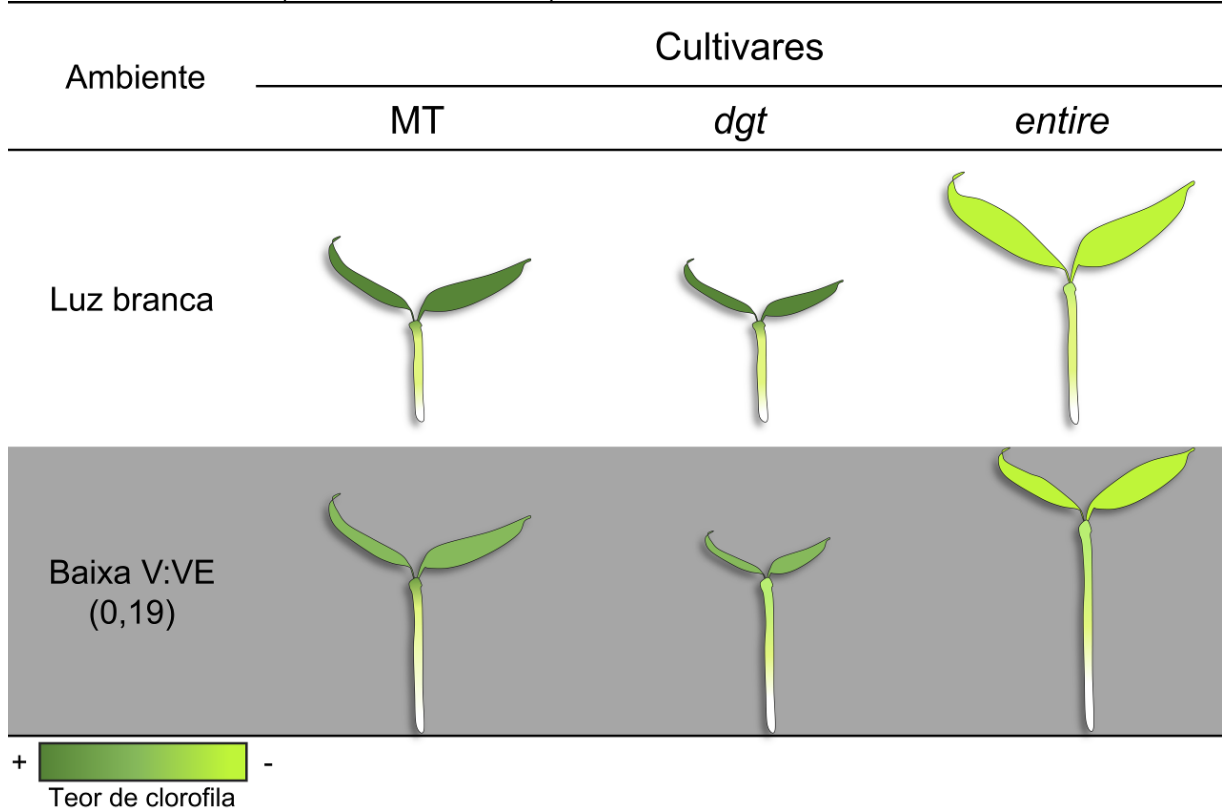


Figura 11. Expressão do DR5:GUS em plântulas transgênicas de tomateiro *DR5::GUS* germinadas no escuro (três dias) e desestioladas (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE por mais cinco dias.

Na Tabela 2, estão ilustrados comprimento do hipocótilo, área cotiledonar e clorofila encontrados neste trabalho, para uma melhor compreensão da discussão.

Tabela 2. Representação dos principais resultados (comprimento do hipocótilo, área cotiledonar e clorofila) apresentados por plântulas de tomateiro MT, *dgt* e *entire*, germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (fundo sombreado) por mais cinco dias. Note as mudanças em relação ao tamanho dos cotilédones, hipocótilos e no teor de clorofilas (tonalides de verde) entre as cultivares e entre o os ambientes.



4.3 Indução da SES – uso de AIA e NPA nos mutantes *phyA*, *phyB1* e *phyB2*

Em plântulas desestioladas, os efeitos da perda dos fitocromos só foram verificados na ausência do *phyB1*. Enquanto ainda retido o *phyB1* nas plântulas, este fotorreceptor mantém função substancial na ausência de *phyB2* e, até mesmo de *phyA*, pois a não presença desses fitocromos (A e B2) não resultou em nenhuma diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao comprimento do hipocótilo comparados ao MM (Figura 12A, 12C e 13), de modo que a perda do *phyB1* resultou em um maior alongamento do hipocótilo (Figura 12B e 13). Como já era de conhecimento, tanto as plântulas dos mutantes quanto a cultivar controle crescidas

em ambiente sob baixa V:VE exibiram maior alongamento do hipocótilo quando comparadas com as crescidas sob luz branca. Contudo, em ambiente com baixa V:VE, apenas os mutantes *phyA* e *phyB1* exibiram maior alongamento do hipocótilo comparados ao MM, o que não ocorreu com o *pyhB2* (Figura 12A, B, C e 13).

Para estudar a interação das auxinas com os fitocromos, durante a SES, aplicou-se AIA e NPA (inibidor do transporte de auxina). De fato, a aplicação do AIA resultou em significativo alongamento do hipocótilo das plântulas de MM, *phyB1* e *phyB2* sob luz branca, com aumento de 18%, 15,7% e 11,5%, respectivamente, o que não ocorreu com o *phyA* (Figura 12A, B e C), sob luz branca. No entanto, a aplicação do NPA também resultou no alongamento do hipocótilo das plântulas do MM e dos mutantes. Com exceção do *phyB1*, este alongamento foi maior e, portanto, significativo até mesmo quando comparado ao alongamento ocasionado pela aplicação do AIA. O aumento no comprimento do hipocótilo das plântulas de tomateiro com 10 dias após a sementeira, com a aplicação de NPA, foi de 39%, 23% e 28% para MM, *phyA* e *phyB2*, respectivamente, sob luz branca (Figura 12A e C).

Verificou-se também que a perda ou não dos fitocromos A, B1 ou B2, observando a condição de luz branca, resultou em plântulas com maior comprimento de hipocótilo, quando crescidas em baixa V:VE com aplicação do AIA e NPA. Por outro lado, os mutantes *phyA* e *phyB1* tiveram menor inibição do alongamento na sombra na condição controle, pois, quando se adicionou o AIA, os respectivos mutantes apresentaram uma redução no comprimento do hipocótilo quando comparado a mesma cultivar na condição controle e quando aplicado NPA. No entanto, a aplicação do NPA em plântulas crescidas em ambiente com baixa V:VE resultou, mais uma vez, no maior alongamento do hipocótilo das plântulas de todos os mutantes, assim como ocorreu na luz branca, o que não ocorreu com o MM, pois, diferentemente das plântulas crescidas na luz branca, os tratamentos com AIA e NPA nas plântulas crescidas com baixa V:VE não resultaram em mudanças significativas no comprimento do hipocótilo destas plântulas (Figura 12A a C).

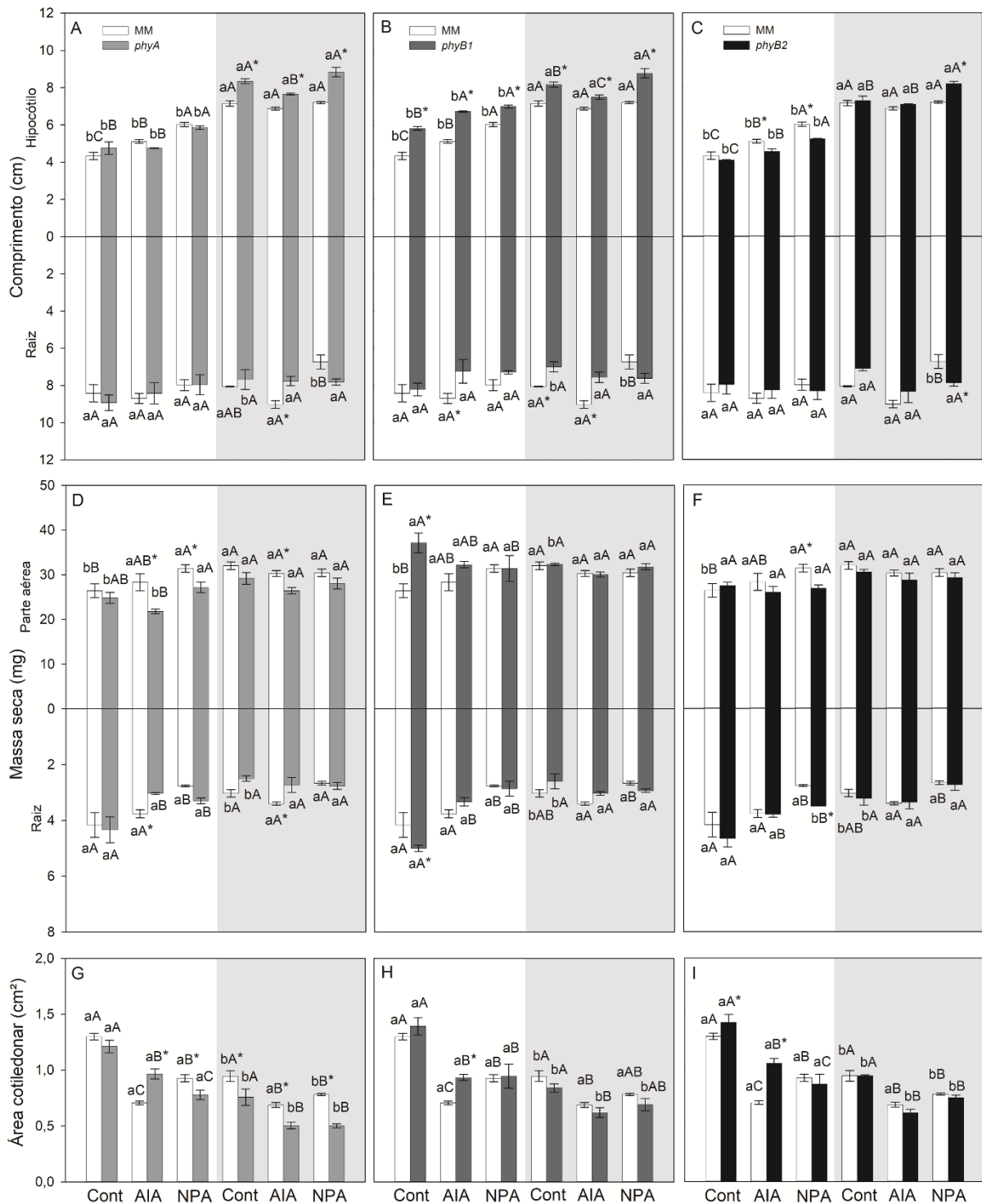


Figura 12. Comprimento do hipocótilo e da raiz (A, B e C), massa seca de parte aérea e de raiz (D, E e F) e área cotilédona (G, H e I) de plântulas de tomateiro (MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*) germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (fundo sombreado) por mais cinco dias, na condição controle (Cont) e com aplicação de AIA (ácido indol-3-Acético) ou NPA (ácido-1-N-naftilftalâmico). $n = 3 \times 15$ ou $3 \times 10 \pm EP$,

comprimento e massa seca e área cotiledonar, respectivamente. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre as médias, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas - compara-se a mesma cultivar em ambiente diferente e mesma condição; letras maiúsculas - compara-se a mesma cultivar em ambiente igual e diferente condição; Asterisco significa diferença entre as cultivares dentro do mesmo ambiente e condição.



Figura 13. Fenótipos das plântulas de tomateiro (MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*) germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (0,119) por mais cinco dias. Nota-se o alongamento dos hipocótilos e a redução da área cotiledonar em todas as cultivares crescidas sob baixa V:VE.

As cultivares (MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*) responderam diferentemente à aplicação de AIA e NPA. Apesar da aplicação de ambos terem resultado em aumento do comprimento do hipocótilo das plântulas de tomateiro, por exemplo, tal aumento foi maior nas plântulas do MM quando comparado ao *phyB2*, sob luz branca, ou seja, a ausência apenas do *phyB2*, mesmo com aplicação do AIA e do NPA, não possui ação direta no alongamento do hipocótilo quando ainda está presente o *phyB1*. O *phyA* só apresentou diferença em relação ao MM quando aplicado o NPA, ou sob baixa V:VE sem ou com aplicação do AIA ou NPA. A

aplicação do AIA e do NPA no *phyB1* resultou em aumentos significativos no comprimento do hipocótilo das plântulas crescidas seja na luz branca seja na sombra (Figura 12A, B e C).

Durante a evitação à sombra, uma das respostas mais conhecidas é a diminuição do sistema radicular em detrimento ao maior alongamento da parte aérea (Morelli e Ruberti, 2000). No entanto, a ausência dos fitocromos não resultou em mudanças significativas no comprimento das raízes das plântulas, sob luz branca, exceto no *phyB1* que apresentou menor comprimento de raiz comparado ao MM ao receberem aplicação de AIA (Figura 12B). As diferenças das cultivares e entre as cultivares na condição de sombra (baixa V:VE) revelaram que as plântulas de MM tratadas com AIA tiveram maior comprimento da raiz, sendo essa diferença também observada em relação ao *phyA* e *phyB1* (Figura 12A e B). O *phyB1* também mostrou um menor crescimento da raiz quando comparado com MM na condição controle e com aplicação do AIA, até mesmo menor comprimento quando comparado o mesmo mutante sob luz branca e sombra. A inibição do alongamento da raiz em função da aplicação do NPA ocorreu apenas em plântulas de MM. Entretanto, no *phyB2*, a diferença encontrada foi em baixa V:VE, quando a aplicação do inibidor do transporte de auxina resultou no maior comprimento da raiz comparado ao MM (Figura 12C).

Quando o crescimento é acompanhado de ganho de massa, ou seja, divisão e alongamento celular, indica um desenvolvimento adequado das plântulas. Todavia, o aumento no comprimento da parte aérea de uma planta não resulta, obrigatoriamente, no incremento de massa, principalmente quando esse aumento no comprimento ocorre durante a SES, comprometendo o desenvolvimento das plântulas (Kharshiing e Sinha, 2016). Resultados assim foram encontrados nos experimentos aqui realizados (Figura 12D, E e F), pois o maior alongamento no hipocótilo das plântulas dos mutantes *phyA* e *phyB1* sob baixa V:VE não resultou em diferenças na MSPA comparados ao MM (Figura 12D e E) mesmo quando plântulas foram tratadas com AIA ou NPA, como foi observado para *phyB2* (Figura 12F).

Ainda no ambiente de sombra, apesar das diferenças encontradas no comprimento dos hipocótilos do MM e dos mutantes, só foi encontrada diferença na MSPA entre as cultivares para *phyA* quando a aplicação de AIA resultou em um

menor acúmulo de MSPA, comparado ao MM (23%) e ao *phyA* (12%) na condição controle, o que também ocorreu com as plântulas crescidas sob luz branca. Quando aplicado o NPA, tanto no *phyA* quanto no MM, resultou em aumento da MSPA sob luz branca, sendo este aumento maior no MM (19%). Destaca-se que a ausência do *phyB1* também resultou em uma maior MSPA, 40% a mais que o MM sob luz branca (Figura 12E).

Apesar de não terem ocorrido muitas diferenças nos comprimentos das raízes, na massa seca de raiz (MSR) foi possível encontrar algumas diferenças entre as cultivares e dentro de cada cultivar, tanto na luz branca quanto em baixa V:VE (Figura 12D, E e F). Entre o MM e os mutantes, foram verificadas diferenças na MSR das plântulas crescidas na luz branca quando da ausência do fitocromo B1 (Figura 12E), o que resultou em uma maior MSR, igualmente ao que ocorreu nas variáveis descritas anteriormente, e quando aplicado NPA o *phyB2* apresentou maior MSR comparado ao MM, embora o AIA tenha causado uma diminuição na MSR do *phyB2*, esta redução, ocasionada pelo NPA, foi maior no MM do que no *phyB2* (Figura 12F). Quando as plântulas cresceram em ambiente com baixa V:VE, não foram encontradas diferenças na MSR entre *phyB1* ou *phyB2* e o MM. Apenas o *phyA* evidenciou menor MSR em relação ao MM quando receberam tratamento com AIA (Figura 12D).

Assim como a regulação do alongamento do hipocótilo pelos fitocromos, sabe-se que estas moléculas também regulam positivamente, entre outros, a expansão dos cotilédones (Casal, 2012, 2013). No entanto, plântulas de tomateiro com 10 dias após a semeadura, crescidas sob luz branca, que não apresentavam fitocromos A e B1 não mostraram diferença na área AC quando comparadas ao MM (Figura 12G e H), ao contrário de *phyB2* que exibiu maior AC (Figura 12I). No ambiente com baixa V:VE, como era esperado, houve uma significativa redução da AC em todas as cultivares em relação às plântulas crescidas sob luz branca (Figura 12G, H e I). No ambiente de sombra, apenas a ausência do *phyA* resultou em menor AC comparado ao MM (Figura 12G), os demais mutantes não tiveram diferença em relação ao MM, observando a condição controle.

Nos dois ambientes de crescimento (luz branca e baixa V:VE), o tratamento das plântulas com AIA resultou na diminuição da AC de todas as cultivares,

comparadas à condição controle. Com isso, verificou-se que a redução da AC foi maior no MM (45%) que no *phyA* (20%), *phyB1* (33%) e *phyB2* (25%), sob luz branca, comparado à condição controle de cada cultivar. Mesmo com esta redução, os mutantes exibiram maior AC em relação ao MM. Entretanto, a aplicação do AIA fez com que a resposta dos cotilédones a este hormônio fosse inversa no *phyA*, ou seja, na sombra, o tratamento com AIA no *phyA* resultou em uma menor AC comparado ao MM.

Ainda foi observado que não ocorreu diferença na AC do MM tratado com AIA quando se comparou os dois ambientes, o que não ocorreu para os mutantes (Figura 12G, H e I), ou seja, além do AIA já ter reduzido a AC, a baixa V:VE também contribuiu para esta redução, pois a AC dos mutantes na sombra, sem receber aplicação do AIA, foi maior. Assim como o tratamento com AIA, o tratamento com NPA resultou na diminuição significativa da AC em todas as cultivares. Essa redução foi semelhante para o MM e os mutantes *phyB1* e *phyB2*. No *phyA*, a redução da AC com tratamento de NPA foi igual a tratada com AIA.

A perda dos fitocromos A e B1 garantiu uma maior concentração de clorofilas (*a*, *b* e *a + b*) (Figura 14A, B, D, E, G e H) e carotenoides (Figura 14J e K) em relação ao MM na luz branca na condição controle, sendo a concentração de *Ca* maior que a *Cb*. No mesmo ambiente e condição, a ausência do *phyB2* conferiu um maior conteúdo *Cb* e carotenoide comparado ao MM (Figura 14F e L). Todavia, a condição de sombra diminuiu significativamente as concentrações destes pigmentos em todos os mutantes, também na condição controle, comparando cada cultivar. No MM só houve redução nas concentrações de *Ca* (Figura 14A, B e C) e *a + b* (*Ctotal*) (Figura 14G, H e I), ou seja, as concentrações de *Cb* e carotenoides do MM não foram alteradas significativamente sob baixa V:VE na condição controle (Fig. 14D, E, F e 14J, K e L, respectivamente). Observou-se ainda que, entre os mutantes e o MM na sombra, não houve diferença na concentração das clorofilas e carotenoides, com exceção do *phyA*, que apresentou maior teor de *Cb* (Figura 14D).

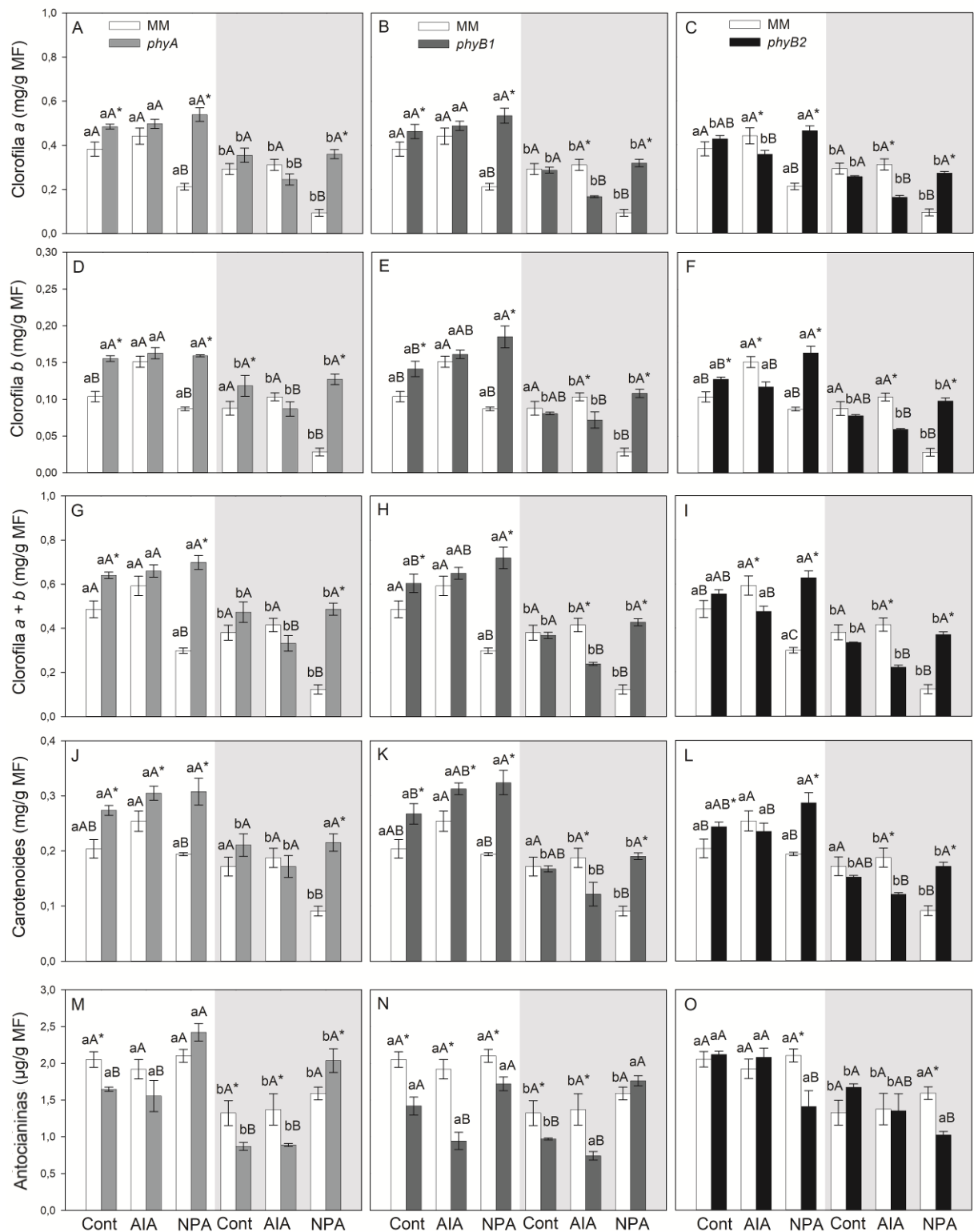


Figura 14. Concentração de Clorofila *a* (A, B e C), *b* (D, E e F), *a + b* (G, H e I), Carotenoides (J, K e L) Antocianinas (M, N e O), de plântulas de tomateiro (MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*) germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam

suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (fundo sombreado) - por mais cinco dias na condição controle (Cont) e com aplicação de AIA (ácido indol-3-Acético) ou NPA (ácido-1-N-naftilftalâmico). $n = 3 \times 3 \pm EP$. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre as médias, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas - compara-se a mesma cultivar em ambiente diferente e mesma condição; letras maiúsculas - compara-se a mesma cultivar em ambiente igual e diferente condição; Asterisco - significa diferença entre as cultivares dentro do mesmo ambiente e condição.

Com aplicação do AIA nas plântulas de MM crescidas sob luz branca, foi possível observar mudança significativa apenas na concentração de *Cb*, ocorrendo um aumento na concentração deste pigmento comparado ao MM na condição controle (Figura 14D, E e F). Já no ambiente com baixa V:VE, o tratamento com AIA não resultou em diferenças na concentração das clorofilas ou carotenoides ao se comparar a condição controle (Figura 14A a 14L).

Para o tratamento com AIA nos mutantes, não foram verificadas diferenças nas concentrações de clorofilas entre cada mutante comparado a condição controle sob luz branca ou até mesmo comparados ao MM, com exceção do *phyB2*, que apresentou menor conteúdo de *Ca*, *Cb* e *Ctotal* em relação ao MM também tratado com AIA (Figura 14C, F e I). A aplicação do AIA resultou em maior concentração de carotenoides do *phyA* e do *phyB1* comparados ao MM (Figura 14J e K).

Diferentemente do que ocorreu sob luz branca, a concentração dos pigmentos fotossintéticos em cotilédones de plântulas com 10 dias após a semeadura, crescidas em baixa V:VE, foi reduzida também em função do tratamento com AIA (Figura 14A). Ou seja, além da sombra ter regulado negativamente o conteúdo desses pigmentos, a adição do AIA contribuiu para uma redução ainda maior. Essas diferenças foram significativas para os mutantes no fitocromo B do tipo 1 e 2, comparados ao MM (Figura 14B, C, E, F, H e I). A concentração de carotenoides do *phyA* não foi afetada pela adição do AIA (Figura 14J). No entanto, os cotilédones das plântulas de *phyB1* e *phyB2* exibiram redução na concentração de carotenoides quando tratados com AIA sob baixa V:VE (Figura 14K e L).

Os cotilédones das plântulas do MM, crescidas na luz branca ou na sombra, quando tratados com NPA, tiveram significativa redução dos pigmentos fotossintéticos e de carotenoides, comparando tanto com MM na condição controle quanto na condição tratada com AIA (Figura 14A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K e L).

Resposta inversa demonstrada pelos mutantes, pois a aplicação do NPA resultou em maiores concentrações destes pigmentos quando comparados ao MM, tanto no ambiente de luz quanto na sombra. Ainda em ambiente de sombra, foi possível constatar que o tratamento das plântulas dos mutantes com NPA resultou também no maior acúmulo tanto de clorofilas quanto de carotenoides quando comparou-se com o tratamento com AIA, não diferindo assim das plântulas na condição controle (Figura 14J, K e L).

Trabalhos têm demonstrado que as antocianinas também possuem sua biossíntese modulada tanto por auxinas quanto por fitocromos (van Tuinen et al., 1995b; Weller et al., 2000; Carvalho et al., 2010b). De fato, o conteúdo de antocianinas dos hipocótilos foi reduzido na ausência dos fitocromos A e B1 crescidos sob luz branca na condição controle (Figura 14M e N), o que não ocorreu para o *phyB2* (Figura 14O), pois não houve nenhuma mudança na concentração de antocianinas deste mutante comparado ao MM na condição controle. Entretanto, mais uma vez o ambiente de sombra fez com que a concentração de antocianinas fosse menor em todas as cultivares quando comparado com o ambiente de luz branca (Figura 14M, N e O). Mesmo assim, o MM teve maior acúmulo de antocianinas em comparação ao *phyA* e *phyB1*.

Quando tratadas como AIA, plântulas de *phyB1* apresentaram redução na concentração de antocianinas nos hipocótilos (Figura 14N), não ocorrendo mudança significativa no *phyA* ou *phyB2* (Figura 14M e O) no ambiente de luz branca em relação ao MM. Todavia, não se encontrou nenhuma diferença quando plântulas de todas as cultivares foram tratadas com AIA e cresceram no ambiente sombreado, comparadas cada cultivar na condição controle (Figura 14M, N e O). O tratamento com o NPA não resultou em mudanças significativas no conteúdo de antocianinas do MM, seja sob luz branca ou em baixa V:VE, comparado à condição controle de cada ambiente (Figura 14M, N e O). Contudo, em *phyA*, a aplicação do NPA resultou em maior concentração deste pigmento, tanto na luz quanto na sombra, comparando a condição controle de cada ambiente (Figura 14M). Aplicado sobre *phyB1*, o NPA levou a um aumento significativo na concentração de antocianinas do hipocótilo quando comparado ao tratado com AIA sob luz branca, ao passo que na sombra tal aumento foi constatado tanto comparado à condição controle quanto ao tratado com

AIA (Figura 14N). Já no *phyB2*, o tratamento com NPA resultou na diminuição na concentração das antocianinas hipocotilar, seja em plântulas crescidas em ambiente com luz branca, seja em ambiente sombreado, diminuição essa comparada entre si e ao MM (Figura 14O).

A concentração de AIA endógena foi determinada em hipocótilos das plântulas de MM e dos mutantes em fitocromos crescidas sob luz branca e baixa V:VE (Figura 15). Verificou-se que plântulas de MM crescidas sob baixa V:VE resultaram em diminuição na concentração de AIA no hipocótilo (Figura 15) quando comparadas ao crescimento sob luz branca. Todavia, no *phyA*, não houve diferença nas concentrações endógenas de AIA observando os dois ambientes, mas a perda do *phyA* resultou na redução do AIA no hipocótilo quando comparado ao MM crescido sob luz branca, não havendo diferença na concentração do AIA quando o MM e o *phyA* foram crescidos sob baixa V:VE. Por outro lado, a perda do *phyB1* não resultou em redução do conteúdo de AIA no hipocótilo dessas plântulas, quando comparadas ao MM, em ambos os ambientes (Figura 15). Com isso, sob baixa V:VE o *phyB1* apresentou maior concentração de AIA no seu hipocótilo quando comparado ao MM (maior que *phyA* também). O *phyB2*, crescido sob luz branca respondeu de maneira semelhante ao *phyA*, ou seja, teve redução no conteúdo de AIA. Entretanto, quando crescido sob baixa V:VE o *phyB2* respondeu de modo semelhante ao *phyB1*, com maior concentração de AIA comparado ao MM crescido no mesmo ambiente (Figura 15). Quando comparado o *phyB2* crescido nos dois ambientes, observou-se que a perda do *phyB2* levou a um aumento da concentração de AIA no hipocótilo das plântulas crescidas sob baixa V:VE.

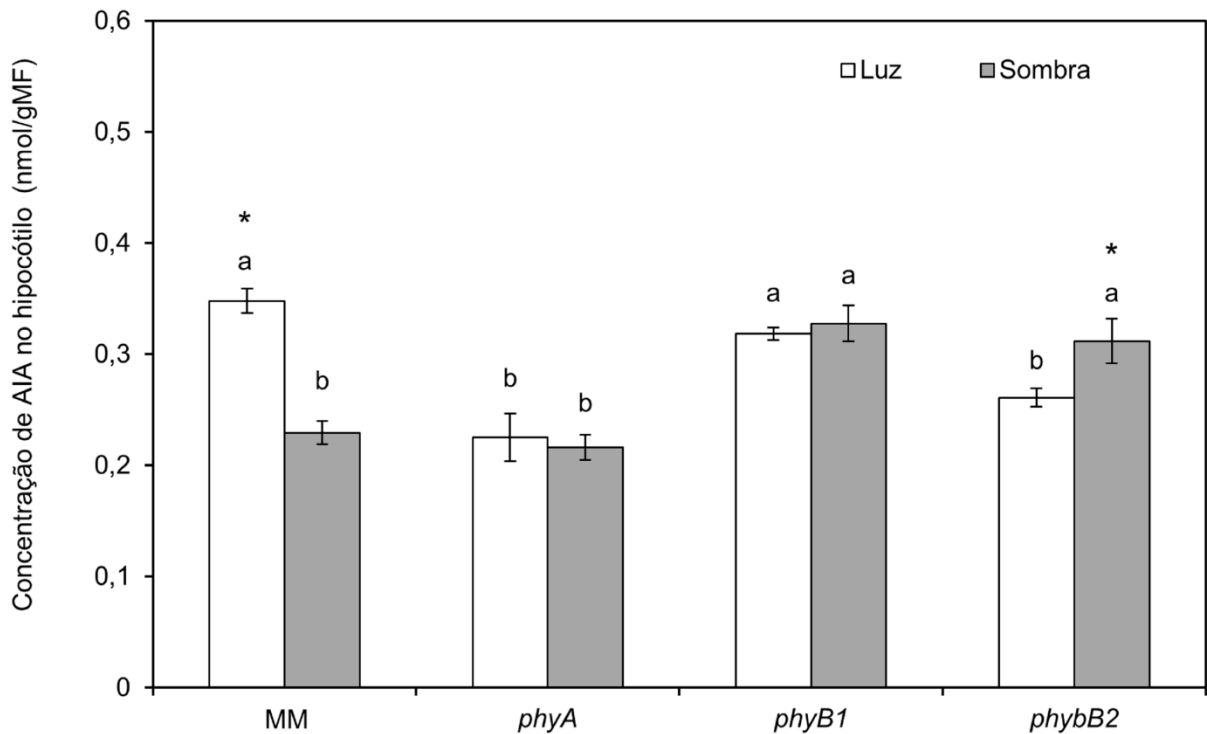



























Figura 15. Concentração de AIA em hypocótilos de plântulas de tomateiro (MM, *phyA*, *phyB1* e *phyB2*) germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (sombra) por mais cinco dias. ($n = 3 \times 3 \pm EP$). As letras sobre as barras representam as diferenças entre as cultivares em cada ambiente, e os asteriscos as diferenças entre ambientes em uma mesma cultivar. A diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre as médias foi calculada pelo teste de Tukey.

Na Tabela 3, estão ilustrados comprimento do hypocótilo, área cotiledonar e concentração de clorofila e na Figura 16 a concentração de AIA, encontrados para este trabalho para uma melhor compreensão da discussão.

Tabela 3. Representação dos principais resultados (comprimento do hipocótilo, área cotiledonar e clorofilas) apresentados pelos mutantes fotomorfogênicos (*phyA*, *phyB1* e *phyB2*) de tomateiro comparados a cultivar não mutada (MM), germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (fundo sombreado) por mais cinco dias na condição controle (Cont) e com aplicação de AIA (ácido indol-3-Acético) ou NPA (ácido-1-N-naftilftalâmico). Comparada a cultivar controle (MM), nota-se as alterações (alongamento do hipocótilo, redução ou aumento da área cotiledonar e concentração de clorofilas) que ocorreram decorrente da aplicação do AIA ou NPA e as resultantes das mutações e do ambiente de crescimento com baixa V:VE.

Cultivares	Luz Branca			Baixa V:VE (0,19)		
	Controle	AIA	NPA	Controle	AIA	NPA
MM						
<i>phyA</i>						
<i>phyB1</i>						
<i>phyB2</i>						

+  -
Teor de clorofila

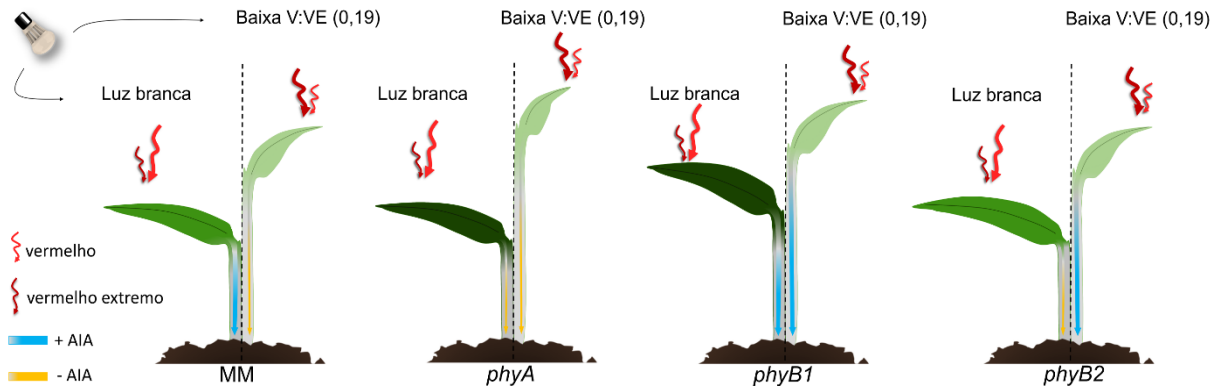


Figura 16. Alongamento do hipocótilo e concentração de AIA em hipocótilos nos mutantes fotomorfogenéticos (*phyA*, *phyB1* e *phyB2*) de tomateiro comparados a cultivar não mutada (MM), germinadas no escuro (três dias) e desestioladas em luz branca (dois dias). Após o desestiolamento, as plântulas permaneceram sob luz branca (fundo branco) ou receberam suplementação com vermelho extremo - baixa V:VE (fundo sombreado) por mais cinco dias. Linha azul = Maior concentração de AIA (+AIA); Linha amarela = Menor concentração de AIA (- AIA). Nota-se que, embora todos os hipocótilos alonguem sob baixa V:VE, a concentração de AIA nos hipocótilos é diferente entre as cultivares.

5. DISCUSSÃO

5.1. Função das auxinas durante a SES em tomateiro

De maneira geral, as plantas cultivadas necessitam de radiações luminosas mais intensas. Assim, práticas da agricultura moderna, como consórcio e adensamento de plantas, expõem as espécies vegetais a ambientes sombreados (redução da V:VE), desencadeando uma série de respostas compreendidas como "síndrome de evitação à sombra" (SES). A SES, um fenômeno que envolve um intrincado mecanismo de interação entre fitocromos e hormônios, especialmente as auxinas, resulta em severa alteração no transporte de fotoassimilados e nutrientes, modificando a relação fonte/dreno da planta que passa a exibir um maior alongamento do caule em detrimento do crescimento de outros órgãos vegetais (Casal, 2013; de Wit et al., 2016a; de Wit et al., 2018).

De fato, quando crescido sob baixa V:VE, o alongamento do hipocótilo foi observado nas três cultivares avaliadas, MT, *dgt* e *entire* (Figura 8A). Contudo,

diferenças marcantes foram observadas entre as cultivares. Por exemplo, plantas de MT exibiram menor acúmulo de MSPA e MSR (Figura 8B), mesmo não havendo diferença no CR e da AC entre plântulas crescidas na luz branca e sob baixa V:VE, ou seja, eventos dependentes especialmente da expansão celular não foram diminuídos pela baixa V:VE em plântulas de MT, mas sim o acúmulo de carbono. Os resultados indicam importante função das auxinas na expansão celular durante as respostas da SES, mais do que a redistribuição de fotoassimilados, que foram diminuídos pela condição de sombreamento devido à redução de pigmentos fotossintéticos em condição sombreada (Figura 8). Deste modo, o alongamento do hipocótilo, neste experimento, parece estar associado, principalmente, à expansão celular resultante da ação das auxinas livres nas células do hipocótilo (Keuskamp et al., 2010), mecanismo corroborado pela elevada atividade do promotor responsivo as auxinas DR5:GUS em plântulas crescidas sob baixa V:VE, indicada pela intensa coloração em azul de todo o hipocótilo das plântulas crescidas sob baixa V:VE (Figura 11).

Quanto ao *dgt*, esperava-se que as mudanças morfológicas causadas pela baixa V:VE seriam minimizadas devido à mutação presente nesse genótipo, a qual altera o transporte e causa baixa sensibilidade à auxina no tomateiro (Zobel, 1973, 1974; Oh et al., 2006; Ivanchenko et al., 2015). No entanto, quando comparamos os dois ambientes de crescimento deste genótipo, o aumento do alongamento do hipocótilo e do comprimento da raiz (Figura 8A), que também resultou no aumento significativo de MSPA e MSR (Figura 8B), pode indicar assim melhor eficiência no uso do carbono por este mutante em ambiente com baixa V:VE, já que no ambiente de luz branca a MSPA e MR do *dgt* são menores que as do MT e do que do próprio *dgt* crescido sob baixa V:VE (Figura 8B). Além do mais, o ganho de MSPA não resultou na redução de tamanho de outros órgãos pois, por exemplo, a AC do *dgt* foi igual nos dois ambientes (Figura 8C). Esses resultados podem estar associados à maior biossíntese de auxina em *dgt* devido ao sombreamento, assim como observado em plantas construídas com promotor responsivo às auxinas DR5:GUS. A maior biossíntese de auxina, nestas condições, atuaria restaurando, ainda que parcialmente, eventos negativamente afetados pela baixa sensibilidade à auxina em plantas de *dgt*.

Entretanto, Kraepiel et al. (2001) propuseram que o envolvimento da sensibilidade à auxina só estaria presente no alongamento do hipocótilo de tomateiro quando estas plântulas (16 dias de idade) cresciam no escuro ou sob vermelho contínuo, pois, quando crescidas sob luz contínua de azul, vermelho extremo ou continuou branca, não foram encontradas diferenças no alongamento dos hipocótilos entre o controle e o *dgt*. De fato, analisando o envolvimento das auxinas no alongamento do hipocótilo do tomateiro crescido sob pulsos de VE, verificou-se que o *dgt* não alterou o alongamento comparado ao MT (Figura 2A e 2B dos Apêndices), resposta semelhante à de plântulas de *dgt* crescidas no escuro (Coenen e Lomax, 1998; Kraepiel et al., 2001).

Além disso, se a baixa sensibilidade à auxina em *dgt* não é um fator limitante ao alongamento do hipocótilo sob baixa V:VE, a alta sensibilidade à auxina no *entire* favoreceu um maior alongamento do hipocótilo entre as cultivares avaliadas, resultando em um aumento de 34% no comprimento do hipocótilo, valor consideravelmente maior que os 18% de aumento do hipocótilo em plantas de MT sob baixa relação V:VE (Figura 8A). Contudo, o maior alongamento do hipocótilo no *entire* crescido sob baixa V:VE resultou em redução da AC (Figura 8C). Ou seja, ao reduzir a AC, o *entire* redirecionou energia para alongamento do hipocótilo, mas sem comprometer o crescimento da raiz (Figura 8A e B). Esse maior alongamento está, provavelmente, relacionado tanto com a maior sensibilidade à auxina, que é natural do *entire*, quanto ao fato da condição de sombra aumentar a sensibilidade das plantas à auxina. Sendo assim, mesmo a mutação conferindo uma maior sensibilidade à auxina, as plantas de *entire* permanecem responsivas à aplicação exógena de AIA (Wang et al., 2005) ou, neste experimento, a maior sensibilidade à auxina induzida pelo sombreamento.

As respostas da SES estão diretamente relacionadas com a diminuição da biossíntese de pigmentos fotossintéticos (clorofilas a, b e carotenóides) (Casal, 2012, 2013; Kutschera e Briggs, 2013). Semelhantemente, verificou-se que cotilédones verdes escuros das plântulas desestioladas de MT e *dgt* continham as maiores concentrações de clorofilas sob luz branca em comparação à baixa V:VE (Figura 10C). Tal resultado ratifica que a qualidade da luz do ambiente possui efeito direto sobre o processo fotossintético (Kutschera; Briggs, 2013) mediante regulação

da concentração de pigmentos, que foi menor nas plântulas crescidas em ambiente com baixa V:VE, desfavorecendo o desenvolvimento do aparato fotossintético.

Entretanto, a concentração de clorofilas do *entire* demonstraram um padrão de respostas completamente diferente do que foi constatado no MT e *dgt*, pois suas concentrações de clorofilas são bem menores, com maior conteúdo de *Cb*, e o conteúdo de pigmentos não foi influenciado pela condição de cultivo (Figura 10A a D). A menor concentração de clorofilas nos cotilédones de *entire* parece estar associada com a maior AC (Figura 8C), o que pode explicar o efeito de diluição dos pigmentos em razão da maior expansão celular (Liu et al., 2012; Cagnola et al., 2012) induzida pela maior sensibilidade deste mutante à auxina. Por sua vez, a maior concentração de carotenoides presente no *entire* (Figura 10D), possivelmente, está ligada à menor concentração de clorofilas, já que uma das funções dos carotenoides é a proteção dos etioplastos de danos oxidativos causados pela energia da luz (Rodríguez-Villalón et al., 2009).

Além disso, trabalhos têm demonstrado que as auxinas podem regular negativamente a biossíntese de clorofila (Kobayashi et al., 2012, 2017). Ainda assim, poderiam as auxinas estar regulando negativamente também a concentração de antocianinas, tendo como base os resultados deste trabalho, pois o *entire*, dentre as três cultivares, apresentou a menor concentração deste pigmento (Figura 10E). Isso indica que a alta sensibilidade à auxina no mutante *entire* possa estar relacionada com a síntese de antocianinas.

Quanto ao *dgt*, não se observou diferença na concentração de antocianinas comparado ao MT nos dois ambientes, o que contraria os resultados encontrados por Zobel (1972) e Carvalho et al. (2010b), pois a mutação *dgt* garantiu maior concentração de antocianinas comparado ao controle. Contudo, é importante considerar a idade das plantas (mais velhas) estudadas nos trabalhos citados, principalmente porque tais diferenças de concentração de pigmentos foram verificadas nas folhas de cada genótipo e associados com a menor expansão foliar, normalmente observada em plantas de *dgt*. Neste experimento, por exemplo, em condição de sombreamento a AC de MT e *dgt* foi semelhante. Não obstante, são necessários mais estudos para melhor elucidar a via de sinalização luz – auxinas e

os mecanismos pelos quais as auxinas regula a síntese de pigmentos fotossintéticos e das antocianinas.

5.2. Interação entre fitocromos e auxina durante a SES

Embora tenha ficado demonstrado no trabalho proposto funções importantes das auxinas nas respostas à SES em tomateiro, nitidamente os fitocromos são parte desta resposta. De fato, tem sido demonstrado que, separadamente, as famílias de fitocromos phyA e phyB (Weller et al., 2000; Schrager-Lavelle et al., 2016), e alguns poucos casos as auxinas, (Kraepiel et al., 2001; Liu et al., 2011) fortemente controlam o desenvolvimento de tomateiro durante a SES. Com isso, resolveu-se estudar se, assim como em *Arabidopsis* (Casal, 2013; Yang e Li, 2017; Yang et al., 2018), ocorrem interações entre fitocromos e auxinas em tomateiro durante a SES. Discutiremos a seguir como cada um dos fitocromos A, B1 e B2 de tomateiros respondem e interagem com as auxinas na modulação do crescimento das plântulas durante a SES.

As respostas de evitação à sombra são comumente seguidas de realocação de energia originadas de outros órgãos vegetais, entre eles, raízes e cotilédones (Morelli e Ruberti, 2000; Carabelli et al., 2007; Pierik e de Wit, 2013). Os resultados encontrados mostraram que o maior comprimento do hipocótilo e maior MSPA em plântulas de MM, crescidas sob baixa V:VE, ocorreu por conta da diminuição da AC e MSR quando comparado às plântulas crescidas sob luz branca (Figura 12D e 12G). Sendo assim, o hipocótilo passa a ser um importante dreno, requerendo o direcionamento de uma maior quantidade de energia da principal fonte (que nesse caso são os cotilédones) para que continue o alongamento e evite a condição desfavorável.

Ao phyA são atribuídas as respostas de fluência muito baixa (RFMB) sob V e VE, e respostas de irradiância alta (RIA) sob VE contínuo (VEc). Em outras palavras, o phyA funciona como sensor, detectando as diminuições na irradiância do V e do VE, o que acontece com o aumento da sombra, quando a atividade do phyA é diminuída. No entanto, esta atividade é aumentada novamente por conta da grave diminuição na V:VE (Casal e Sánchez, 1998; Casal et al., 1998; Takaki 2001). A seguir discutiremos as respostas do mutante *phyA*.

O fato do mutante *phyA* crescido sob luz branca não ter apresentado um aumento no alongamento do hipocótilo comparado ao MM (Figura 12A), ao contrário do que foi descrito em outros trabalhos (van Tuinen 1995a; Weller et al. 2000), é justificado pelo fato de que, em contraste aos outros tipos de fitocromos, a forma ativa de *phyA* é mais estável em condição sombreada, e acumula relativamente em altas quantidades em plantas estioladas para inibir uma excessiva SES, ao passo que uma elevação em V:VE resulta na rápida degradação de *phyA* (Franklin et al., 2007; Casal, 2013). Entretanto, o aumento significativo no alongamento do hipocótilo do *phyA* no ambiente de baixa V:VE, comparado ao crescido na luz branca e ao MM no ambiente de baixa V:VE (Figura 12A), fica evidenciado que a função do *phyA* é não permitir um alongamento exagerado do hipocótilo das plântulas de tomateiro (Sessa et al., 2018). Além disso, ao observarmos a MSR e AC (Figura 12D), fica evidente também um direcionamento de fotoassimilados destes órgãos para o alongamento do hipocótilo, tal como ocorreu para o MM. Porém, a redução da AC foi bem maior no *phyA* do que no MM sob baixa V:VE (Figura 12G).

Estudo em *Arabidopsis* (Yang et al., 2016) e em tomateiro (Kharshiing e Sinha, 2016) têm mostrado que a perda de fitocromos, entre eles o *phyA*, conduz a redução na biomassa de plantas adultas ou em desenvolvimento. Por exemplo, a deficiência em fitocromo A resultou na diminuição da biomassa da parte aérea das plantas de tomateiro com um mês de idade, mas não houve diferença na raiz (Kharshiing e Sinha, 2016). Os autores demonstraram que a deficiência do *phyA* em plantas de tomateiro levou à diminuição das taxas de transporte de elétrons nos cloroplastos, menor concentração de clorofila e, conseqüentemente, à redução da biomassa (provavelmente pela menor utilização do amido armazenado). Entretanto, os resultados demonstraram que as plântulas de tomateiro do MM e do *phyA*, com 10 dias após a semeadura não apresentaram diferenças na MSPA ou MSR (Figura 12D). Mesmo sob baixa V:VE, não houve diferença entre as cultivares. Todavia, quando comparamos os ambientes de cultivo, observa-se que o acúmulo de MSPA foi maior sob baixa V:VE, tanto no MM quanto no mutante *phyA* (Figura 12D). Os resultados podem ser explicados por meio da modificação da relação fonte/dreno na condição de sombra, ou seja, nesta condição ocorreu acúmulo de MSPA em detrimento do CR, MSR e da AC de ambas as cultivares sugerindo que *phyA* não

tem ação direta sobre o acúmulo de massa seca, seja da parte aérea, seja da raiz em plântulas de tomateiro com 10 dias após a semeadura.

O phyB é o responsável pelas respostas de baixa fluência (RBF). Sendo assim, é requerido uma elevada quantidade de phyBve para induzir a RBF, o que só é possível sob V (Casal e Sánchez, 1998). O phyB, diferentemente do phyA, funciona como um sensor da V:VE e de irradiância V (Franklin et al., 2003), ou seja, este fitocromo é responsável por perceber o aumento da sombra, ocasionado pela redução na V:VE e também na diminuição da irradiância do V (Casal, 2012). É importante comentar que no tomateiro os fitocromos B1 e B2 têm predominante funções semelhantes (Kerckhoffs et al., 1999; Weller et al., 2000), as quais também são evidenciadas neste trabalho, porém foram mostradas respostas que podem ser expressadas predominantemente por phyB2.

O maior CPA, MSPA e MSR sob luz branca do *phyB1* não resultou em diminuição na AC ou de raiz deste mutante comparado ao MM (Figura 12B, E e H) sugerindo, assim, que outros fitocromos podem participar no controle do crescimento das plântulas na luz e que o alongamento seja resultado de multiplicação e expansão celular. No entanto, sob baixa V:VE a ausência do phyB1 induz respostas semelhantes às apresentadas pelo phyA, visto que o maior alongamento do hipocótilo e a manutenção da MSPA igual ao MM se deve à redução do CR e da MSR (Figura 12B e E). Contudo, as reduções de CR e MSR foram maiores no phyB1 comparado ao MM. Os referentes resultados são esperados, uma vez que algumas das respostas moduladas pela luz levam a modificações no crescimento e na arquitetura que podem exigir alterações simultâneas na distribuição e no manejo dos recursos de carbono (Krahmer et al., 2018). Sendo os fitocromos responsáveis pela percepção da luz, é possível conjecturar que os fotorreceptores estão direta ou indiretamente relacionados com o processo de armazenamento e distribuição de fotoassimilados.

Quando observamos os resultados apresentados pelo *phyB2*, fica evidente que, em plântulas de tomateiro, o phyB2 tem função parcialmente redundante com phyB1. Em outras palavras, a inibição do alongamento do *phyB2* na luz branca e até mesmo o alongamento igual ao MM sob baixa V:VE sugere fortemente que o phyB1 pode compensar a perda de phyB2, mas o contrário não é verdadeiro (Weller et al.,

2000). Respostas semelhantes também foram encontradas para *Arabidopsis*, pois os fitocromos D e E tiveram certa redundância com phyB (Franklin et al., 2003; Schrager-Lavelle et al., 2016). Com tudo, não é surpresa que outros fitocromos participem na inibição do alongamento do hipocótilo. Foi demonstrado por Schrager-Lavelle et al. (2016) que phyE é requerido na ausência do phyB1 e phyB2, pois o mutante duplo *phyB1phyB2* ainda apresentava relativa inibição do alongamento do hipocótilo em comparação com o mutante triplo, que não possuíam os fitocromos do tipo B1, B2 e E. Entretanto, estudos adicionais serão necessários no sentido de estabelecer funções específicas para o phyE e até mesmo o phyF em tomateiro.

Inicialmente, foi demonstrado que o crescimento dos cotilédones estiolados em resposta à luz vermelha era reduzido em plantas deficientes em phyB (Neff e Van Volkenburgh, 1994). No entanto, já é sabido que em muitas espécies o phyB ou a razão V:VE podem aumentar ou diminuir a área foliar. Dependendo das condições de crescimento e da espécie, por exemplo, baixas razões V:VE e a mutação do phyB resultaram no aumento da área foliar em plantas de *Arabidopsis* (Franklin et al., 2003; Boccalandro et al., 2009; Patel et al., 2013), o que foi constatado em parte neste trabalho, porque a ausência do phyB2 em plântulas de tomateiro resultou em maior AC (Figura 12I), ao passo que essa resposta não ocorreu para os demais mutantes. O fato da AC ter sido reduzida sob baixa V:VE, igualmente ao MM, pode sugerir que outro(s) fitocromo(s) e comprimentos de onda, como o azul, esteja(m) envolvido(s) na regulação da AC, que responde de forma semelhante ao phyB1, ou até mesmo a outros fotorreceptores, o que não seria surpresa, pois tem ficado cada vez mais evidente a participação dos criptocromos e da luz azul nas respostas das plantas ao ambiente de luz (Van Volkenburgh 1999; de Wit et al., 2016b).

Todos esses resultados sugerem que o processo de expansão dos cotilédones e de folhas completamente desenvolvidas possam ser regulados diferentemente nas distintas fases de desenvolvimento pelos fotorreceptores, sendo essas diferenças aumentadas quando observadas em espécies diferentes. Com isso, os dados aqui encontrados sugerem que o phyA regula positivamente a expansão cotiledonar na sombra, visto a diminuição significativa da AC na ausência desse fitocromo (Figura 12G), sendo a hipótese reforçada pelo fato de que os

mutantes *phyB1* e *phyB2* não tiveram sua AC diminuída comparado ao MM na sombra (Figura 12H e I), pois o *phyA* está presente em ambos.

Vale frisar que não se tem informações suficientes determinando de que forma ou quais os mecanismos pelos quais os fitocromos A e B regulam a expansão cotiledonar/foliar. Não obstante, estudos demonstram que a variação no tamanho das folhas tem sido atribuída às diferenças quanto ao número de células, ou ao tamanho da célula, bem como combinações dos dois, pois ambos os fitocromos podem controlar o alongamento polar das células (Smith et al., 1995; Van Volkenburgh, 1999; Tsukaya et al., 2002; Patel et al., 2013). De fato, os mutantes em *phyB1* e *phyB2* de arroz tiveram redução da área foliar decorrente do aumento na expressão de inibidores de ciclinas cinase-dependentes, as quais são necessárias à divisão celular durante o desenvolvimento das folhas (Liu et al. 2012). Tal fenômeno não foi observado para os tomateiros mutantes, com a exceção do *phyA* na sombra, visto que esse genótipo resultou em tamanho reduzido da AC (Figura 12G), e o *phyB2* que, contrariamente, teve a sua AC aumentada em relação ao MM (Figura 12I), fato também constatado em *Arabidopsis* (Franklin et al., 2003; Boccalandro et al., 2009).

Os resultados demonstram que aplicação de AIA promoveu o alongamento do hipocótilo de plântulas de MM crescidas na luz branca (Figura 12A), provavelmente por uma maior expansão celular (Collet et al., 2000; Nongmaithem et al. 2020). Mesmo com esse alongamento do hipocótilo, plântulas de MM crescidas na luz branca não tiveram aumento da MSPA (Figura 12D), indicando efeito de uma maior concentração de AIA endógeno na plântula. Outro fator que vale ressaltar é que a ação do AIA parece ser mais localizada, ou seja, essa substância agiu no local, ou bem próximo do local de absorção. Esta hipótese pode ser sustentada pelo fato do AIA não ter favorecido o crescimento significativo nas raízes (Figura 12A e D). De fato, tem-se mostrado que em *Arabidopsis* as auxinas possuem uma maior ação nos órgãos onde são sintetizadas (Zhao, 2018). Por outro lado, a AC do tomateiro foi severamente reduzida pela aplicação do AIA, evidenciando o efeito inibitório da alta concentração deste hormônio associado à concentração endógena das auxinas sintetizadas nos cotilédones das plântulas. Esse evento pode explicar a menor

expansão celular (Figura 12G, H e I) (Zhao, 2018). Além disso, o efeito das auxinas exógenas é bastante complexo, sendo ainda dependente do órgão, tecido e espécie.

Contrariamente ao que ocorre em *Arabidopsis* (Iglesias et al., 2017), a aplicação de AIA não estimulou o alongamento do hipocótilo do MM sob baixa V:VE (Figura 12A). Os níveis endógenos de auxina nos hipocótilos já podem ser suficientes para garantir o maior alongamento no MM, que possui todos fitocromos (Barratt e Davies, 1996). Dessa maneira, a adição no AIA não exerce nenhuma função sob baixa V:VE, ao passo que os resultados nos dão suporte para atribuir essa inibição do alongamento do hipocótilo aos fitocromos, mais precisamente ao *phyA* e o *phyB1*, uma vez que na ausência de um destes fitocromos ainda pode ser observado um maior alongamento do hipocótilo se comparado às plantas que cresceram sob luz branca (Figura 12A e B). No entanto, a aplicação de AIA sob baixa V:VE inibe, mesmo que em menor intensidade, o alongamento do *phyA* e do *phyB1* se comparado com as plântulas que não receberam tratamento (Figura 12A e B), o que sugere mais uma vez que o excesso de auxina nos hipocótilos pode estar inibindo o seu crescimento (Zhao, 2018), pois, geralmente, os níveis endógenos de auxina em células jovens responsáveis pela expansão são maiores do que das células intermediárias. Assim, a aplicação exógena de AIA faz com que as células possuindo níveis ótimos de auxina tenham sua expansão inibida, ao passo que células com níveis mais baixos de auxina tenham um aumento na expansão (Barratt e Davies, 1996; Collet et al., 2000). Já é conhecido que em *Arabidopsis* a ausência dos fitocromos ou o ambiente com baixa V:VE estimula uma maior biossíntese e sensibilidade das auxinas (Casal, 2012, 2013; de Wit 2016a). Foi demonstrado que o *phyA* regula negativamente as respostas ao sombreamento em *Arabidopsis* por promover uma maior estabilidade à proteína AUX/IAA (Auxina/ácido indol-3-acético), regulador negativo das auxinas (Yang et al. 2018) podendo, assim, ser atribuído a ausência do *phyA* ao maior alongamento do hipocótilo do *phyA* comparado ao MM sob baixa V:VE (Figura 6A e B). Nesse sentido, as respostas dependentes das auxinas serão mais fortemente expressadas, já que o *phyA* não está presente para garantir maior estabilidade à proteína AUX/AIA.

Comprovadamente em *Arabidopsis*, o fitocromo B (*phyB*) é o principal fotorreceptor responsável pela quase totalidade da SES e, por vezes, tem ação

reduntante com outro fitocromo do mesmo clado (Casal, 2013; Ma e Li, 2019). Entretanto, os resultados sugerem que, em plântulas de tomateiro com 10 dias após a semeadura, o alongamento do hipocótilo durante a SES é regulado principalmente pelo phyA mesmo com aplicação do AIA, pois foi na ausência desse fitocromo foram observadas mais mudanças em relação ao MM durante a SES. Por exemplo, o alongamento do hipocótilo do *phyA*, com aplicação do AIA sob baixa V:VE comparado ao MM, ocorreu em função da redução no CR (Figura 12A) e MSPA, MSR (Figura 12D) e da AC (Figura 12G), ou seja, o phyA desempenha importante função durante a SES, visto que na sua ausência as plântulas podem realocar fotoassimilados dos demais órgãos em detrimento do maior alongamento do hipocótilo pela expansão celular (Du et al., 2018). Essa resposta é reforçada pelo fato de não ocorrer tais mudanças com os mutantes *phyB1* e *phyB2* (Figura 12B, C, E, F, H e I) quando ainda está presente o phyA. O fato das plântulas de tomateiro ausentes do phyB2 responderem à SES de forma semelhante ao MM sob baixa V:VE, mesmo com a aplicação do AIA, reforça a hipótese de que o fitocromo B2 apresenta redundância com o phyB1 (Weller et al., 2000; Casal, 2013).

É importante destacar que o fato do NPA estimular o alongamento do hipocótilo sob luz branca e baixa V:VE de todas as cultivares (Figura 12A a C), e não o inibir como esperado, pode acontecer em razão da atividade de auxina fraca deste composto, a qual não está relacionada com a sua capacidade de evitar o transporte polar das auxinas (Katekar e Geissler, 1980; Kraepiel et al., 2001). Liu et al. (2011) demonstraram que o transporte polar do AIA foi diminuído em mais da metade com aplicação de 10 μ M NPA em hipocótilos de tomateiro. Da mesma forma, a luz vermelho extremo e a ausência do phyA, phyB1, e phyB2 também reduzem o transporte polar do AIA (Liu et al., 2011). Zhao (2018) observou em *Arabidopsis* que a aplicação do NPA impediu que o AIA fosse transportado dos cotilédones para o hipocótilo na sombra. As somas destes resultados sugerem que, mesmo as auxinas sendo um fator limitante para o crescimento das plantas, o seu transporte polar não se faz necessário para o crescimento basal dos hipocótilos de tomateiros, porém envolve a homeostase das auxinas durante a SES (Kraepiel et al., 2001; Du et al., 2018), o que pode ser verdade, pois a diminuição do transporte polar das auxinas não as impede de serem sintetizadas ao longo do hipocótilo do tomateiro. Em outras

palavras, ao longo do tecido jovem do hipocótilo do tomateiro é sintetizada a auxina necessária para o alongamento (Liu et al., 2011).

O alongamento do hipocótilo do MM sob ambiente de baixa V:VE e reduzida concentração de AIA no tecido do hipocótilo (Figura 15 e 16) indicam que a resposta adaptativa do tomateiro à sombra é independente da concentração deste hormônio. Em *Arabidopsis*, foi demonstrado, principalmente por mecanismos moleculares, que o alongamento do hipocótilo à sombra envolve o aumento da biossíntese, aumento do transporte e aumento na sensibilidade as auxinas (Yang e Li, 2017; Sessa et al., 2018), diferentemente do observado para o tomateiro. Neste contexto, a resposta adaptativa do tomateiro pode estar associada a uma alteração na sensibilidade à auxina, ocasionada pela baixa V:VE (Keuskamp et al., 2010). Adicionalmente, observou-se um significativo aumento no alongamento do hipocótilo do tomateiro sob luz branca e tratado com inibidores do transporte de auxina, TIBA e NPA (até 100 μ M, Figura 1C e D dos Apêndices). Estes resultados colaboram com a evidência de que o alongamento normal do hipocótilo em plântulas do tomateiro desestioladas ocorre independentemente da função do transporte de auxina (Kraepiel et al., 2001). É importante mencionar que o NPA interrompe o transporte polar das auxinas, mas não impede a sinalização de auxina para o crescimento (Teale e Palme, 2017). Por sua vez, a síntese e o acúmulo de auxina podem ocorrer em regiões específicas do caule/hipocótilo, associados às alterações anatômicas que ocorrem neste tecido, o que favorece o seu crescimento (Pattison e Catalá, 2012; Liu et al., 2011).

A menor concentração de AIA no MM crescido sob baixa V:VE em relação às plântulas crescidas na luz (Figura 15 e 16) nos sugere, então, que os fitocromos são parte importante para o alongamento do hipocótilo, pois a ausência dos fitocromos B1 e B2, sob baixa V:VE resultou no aumento da concentração de AIA quando comparado ao MM, indicando a habilidade destes fitocromos em modular as respostas para o alongamento do hipocótilo em condições de sombra. Além disso, vale mencionar que plântulas de *phyB2* sob luz branca demonstraram concentração de AIA inferior as plântulas do MM, indicando uma participação mais efetiva do *phyB2*, em relação ao *phyB1*, quando comparados com as respostas do MM (Figura 15 e 16). Assim, tem sido atribuído ao *phyB* o controle das respostas das plantas quanto às auxinas dependentes da luz, principalmente pela regulação negativa que

esse fitocromo exerce sob os PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR (PIF`s), moléculas responsáveis pelo aumento da biossíntese de auxina, tanto em *Arabidopsis* (Lorrain et al., 2007; Casal, 2013; Hersch et al., 2014) quanto em algumas plantas cultivadas, entre elas o tomateiro (Rosado et al., 2019).

Entretanto, sugerimos que estudos futuros abordem especificamente essa interação entre os fitocromos e os PIF`s em tomateiro, uma vez que os dados de concentração de AIA nos hipocótilos aqui apresentados divergem daqueles que foram encontrados por Rosado et al. (2019) quando atribuíram o menor crescimento das plântulas de tomateiro que tiveram o SIPIF4 silenciado ao menor conteúdo de AIA presente nas folhas. Vale frisar que ambos os resultados estão de acordo com a observação de que cada tecido/órgão podem regular de forma diferente respostas sistêmicas e específicas durante o sombreamento (Bush et al., 2015).

Interessantemente, a ausência do phyA sob luz branca reduziu a concentração de AIA no hipocótilo do tomateiro em relação ao MM (Figura 15 e 16), revelando que o phyA de tomateiro parece ter importante função no controle das respostas às auxinas. Contudo, os mecanismos por meio dos quais o phyA regula as respostas à auxina nos hipocótilos do tomateiro parecem ser totalmente diferentes dos observados para os outros fitocromos. Curiosamente, a concentração de AIA nas plântulas de *phyA* se manteve inalterada mesmo sob baixa V:VE, mas a resposta de alongamento do hipocótilo foi semelhante ao observado para *phyB1* que, por sua vez, teve a concentração de AIA aumentada no ambiente de sombra (Figura 15 e 16). Contudo, os mecanismos pelos quais phyA modula a sinalização das auxinas durante a SES não têm sido explorados. Alguns trabalhos (Kharshiing e Sinha et al., 2016; Velez-Ramirez et al., 2019) têm começado a explorar a participação do phyA no crescimento e desenvolvimento do tomateiro. Com isso, sugere-se aqui, com base nos dados apresentados, que phyA de tomateiro possa agir de modo semelhante com o phyA de *Arabidopsis*, no sentido de ser responsável por modular a sensibilidade à auxina (Yang et al., 2018). A referida teoria também é sustentada pelo fato do phyA de tomateiro não ser totalmente eliminado pela degradação na luz (Husaineid et al., 2007; Velez-Ramirez et al., 2019).

A luz é o principal componente ambiental que modula a biossíntese de clorofila (Liu et al. 2017). Os mecanismos moleculares dessa modulação ocorrem,

em parte, a partir da regulação dos PIFs, reguladores negativos das respostas à luz (Stephenson e Terry, 2008; Stephenson et al., 2009; Shin et al., 2009; Toledo-Ortiz et al., 2010, 2014) e ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), regulador positivo das respostas à luz (Ang et al., 1998; Liu et al., 2017). Claramente essas moléculas fazem parte da via de sinalização dos fitocromos (Galvão e Fankhauser, 2015; Liu et al. 2017). Todavia, o aumento nas concentrações de clorofilas e carotenoides nos mutantes *phyA* e *phyB1* (van Tuinen et al., 1995a, 1995b) sugere que tais fitocromos atuam como reguladores negativos destes pigmentos sob luz branca em plântulas, como observado neste trabalho (Figura 14). Contudo, sob baixa V:VE, a concentração destes pigmentos foi inferior nestes mutantes quando comparados com o MM, sugerindo que os fitocromos regulam positivamente esses pigmentos em condição de sombra. De fato, o mutante *aurea* (*au*), o qual é deficiente na biossíntese de todos os fitocromos, possui um evidente aspecto clorótico, além de um maior alongamento do caule comparado ao genótipo não mutado (van Tuinen et al., 1996; Muramoto et al., 2005; Carvalho et al., 2011a), o que evidencia a importante participação dos fitocromos na síntese de clorofila.

Faz-se necessário comentar que, assim como a baixa V:VE, a ausência de fitocromos também induz a redução de pigmentos, porém essas reduções nos níveis de clorofila e carotenoides são mais frequentemente encontradas em plantas adultas e não em plântulas (Kharshing e Sinha, 2016; Mereb et al., 2020). Não seria surpresa também caso a resposta fosse diferente entre as espécies, pois a mutação *phyB* leva a uma redução severa do conteúdo de clorofila nos coleótilos das plântulas de arroz de nove dias de idade (Inagaki et al., 2015) e *Arabidopsis* (Reed et al., 1993).

Os carotenoides possuem como função principal a fotoproteção das clorofilas (Gavassi et al., 2017). Com isso, não coincidentemente, a concentração de carotenoides foi aumentada na ausência dos fitocromos (inclusive o *phyB2*) sob luz branca (Figura 14J, K e L) e, semelhante ao conteúdo de clorofila, tiveram sua concentração significativamente diminuída sob baixa V:VE, visto que sua síntese também é regulada por PIFs e HY5, fatores que regulam de forma antagônica a inibição e a síntese, respectivamente, de carotenoides (Toledo-Ortiz et al., 2010, 2014).

É oportuno frisar que pouco se conhece da via de sinalização das auxinas e a biossíntese de clorofila (Liu et al., 2017). Sugere-se que o aumento nos pigmentos fotossintéticos que ocorreram com a aplicação de AIA e NPA sob luz branca (Figura 14) possam estar associados à redução da AC, o que levaria provavelmente a uma alta concentração de pigmentos por unidade de massa/área (Liu et al., 2012; Cagnola et al., 2012; Gavassi et al., 2017). Entretanto, sob baixa V:VE, é possível observar que os fitocromos B1 e B2 contribuem com a manutenção da concentração destes pigmentos, uma vez que a aplicação de AIA reduziu severamente a concentração das clorofilas e dos carotenoides nos mutantes *phyB1* e *phyB2*, revelando uma atividade de repressão da síntese de clorofila pelas auxinas (Kobayashi et al., 2017). No entanto, quando aplicado o NPA, observou-se uma redução no conteúdo dos pigmentos do MM comparado ao *phyA*, *phyB1*, *phyB2* e ao MM controle sob baixa V:VE (Figura 14). Por isso, entende-se que mais estudos serão necessários para desvendar a rede de sinalização luminosa na regulação da síntese dos pigmentos fotossintéticos pelas auxinas.

Sabe-se que a baixa V:VE diminui a concentração de antocianinas e outros flavonoides (Cagnola et al., 2012). Neste trabalho, verificou-se que todas as cultivares tiveram redução no conteúdo de antocianinas (Figura 14M, N e O), o que não causa estranheza, pois uma das funções das antocianinas é a fotoproteção dos tecidos (Carvalho et al., 2010b). Sendo a luz o principal fator que modula a síntese de antocianinas (Cominelli et al., 2008; Carvalho et al., 2010b), não é surpresa que os fitocromos estejam envolvidos no controle de síntese desse pigmento (Kerckhoffs et al., 1997; Weller et al., 2000; Carvalho et al., 2010b; Cagnola et al., 2012). Assim, foi mostrado por Kerckhoffs et al. (1997) e Husainid et al. (2007) que a deficiência em *phyA* e *phyB1* reduziu a concentração de antocianinas, confirmando que os fitocromos são parte desta rede que controla a síntese das antocianinas (Weller et al., 2000; Carvalho et al., 2010b; Gavassi et al., 2017). De modo análogo, os resultados aqui encontrados demonstraram que a ausência de ambos os fitocromos A e B1 regula positivamente o acúmulo das antocianinas.

Assim como no alongamento do hipocótilo, na síntese de antocianinas o *phyB1* pode compensar a perda do *phyB2*, como sugerido por Weller et al. (2000), uma vez que não foram encontradas diferenças entre concentrações de

antocianinas do mutante *phyB2* e o MM. Em contra partida, o contrário não é verdadeiro, ou seja, o *phyB2* não pode compensar a perda do *phyB1*, isso se deve ao fato de que o *phyB1* é responsável pela RIA dependente do V, porém Husainid et al., (2007) demonstraram que a superexpressão do *phyB2* aumenta a síntese de antocianinas no transgênico *PHYB2OE*, indicando que um aumento na quantidade de *phyB2* ativo pode suprir a ausência do *phyB1*.

Assim como a luz, as diferentes classes hormonais fazem parte da rede de sinalização que modula a síntese de antocianinas (Carvalho et al., 2010b; Cagnola et al., 2012), mas não está claro como as auxinas-luz controlam a síntese de antocianinas, porque, com exceção do *phyB1* sob luz branca, a aplicação do AIA exógeno não resultou em alterações significativas no acúmulo de antocianinas, tanto sob luz branca quanto sob baixa V:VE (Figura 14), o que está em conformidade com Carvalho et al. (2010b). A aplicação do NPA, que levou a um significativo aumento da concentração desse pigmento no *phyA* e uma diminuição no *phyB2*, respectivamente, tanto sob luz branca quanto sob baixa V:VE, somado ao fato do *phyB1* ter a concentração de antocianinas aumentada apenas sob baixa V:VE, sugere que esta interação entre auxina e fitocromos é dependente do tipo de fitocromo e também do ambiente em que se encontra a plântula. Essa hipótese é sustentada pelo fato do MM não apresentar nenhuma mudança por meio da aplicação exógena do AIA ou NPA. Contudo, é importante comentar que outros hormônios, tais como citocininas e o ácido jasmônico, modulam a síntese de antocianinas em conjunto com as auxinas (Carvalho et al., 2010b; Cagnola et al., 2012), indicando uma sinalização complexa das vias que modulam a síntese e acúmulo das antocianinas.

Por fim e não menos importante, é preciso destacar que algumas das diferenças observadas entre os trabalhos são decorrentes, em parte, do fato dos tratamentos de luz utilizados para induzir a SES (RFA e a V:VE) terem variado bastante entre os laboratórios que, em sua maioria, utilizam como principal resposta à sombra o alongamento do hipocótilo (Martínez-García et al., 2014). Deve-se levar em conta também a grande e significativa variabilidade genética interespecífica e intraespecífica na SES, que pode refletir a adaptação às condições locais (Casal, 2013; Bush et al., 2015). Nos últimos anos, a complexidade molecular que controla a

SES foi bem explorada em *Arabidopsis*, mas algum tempo será necessário até que todos os conhecimentos sejam transferidos para plantas de importância econômica alimentar (Ma e Li, 2019).

6. CONCLUSÃO

Demonstrou-se aqui que existe sim interação entre as auxinas e os fitocromos tipo A, B1 e B2 de tomateiro durante a SES. Foi demonstrado também que as auxinas são, sim, parte da sinalização de *phyA* e *phyB* de tomateiro durante a SES. No entanto, somente essa interação não é suficiente para explicar a SES. O *phyA* é, entre os fitocromos, o principal modulador da SES, seguido do *phyB1* e, em menor intensidade, do *phyB2* em plântulas de tomateiro com 10 dias após a sementeira. Por sua vez, a aplicação de auxina exógena não estimula a SES, porém o transporte a longa distância de auxina alterado no *dgt* ou o transporte polar das auxinas inibido pelo NPA no MM e nos mutantes *pyhA*, *phyB1* e *phyB2* não inibiram, mas promoveram a SES em plântulas de tomateiro com 10 dias após a sementeira. Sendo assim, são necessárias novas abordagens, tais como o uso de inibidores da biossíntese de auxina, que permitam melhor compreender a interação dos fitocromos de tomateiro com as auxinas durante a SES.

Verificou-se ainda que o *dgt* sob baixa V:VE apresentou maior crescimento se comparado com o MT sugerindo, assim, que no futuro as mutações presentes nas plantas utilizadas como modelos fisiológicos possam ser exploradas com o objetivo de transferir tais características que garantem um maior desempenho sob condições de luminosidade baixa para as cultivares comerciais.

7. REFERÊNCIAS

- Ang LH, Chattopadhyay S, Wei N, Oyama T, Okada K, Batschauer A, Deng XW (1998) Molecular interaction between COP1 and HY5 defines a regulatory switch for light control of Arabidopsis development. **Molecular Cell** 1: 213–222. DOI: 10.1016/S1097-2765(00)80022-2.
- Ara T, Takahashi S, Waki N, Sakurai N, Aizawa K, Suganuma H, Matsumura Y, Kawada T, Shibata D (2017) Comparative metabolomic analysis of two tomato cultivars during fruit maturation. **Acta Horticulturae** 1159:101–106. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1159.16.
- Bae G, Choi G (2008) Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. **Annual Review of Plant Biology** 59: 281–311. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092859.
- Ballaré CL (2017) Phytochrome Responses: Think Globally, Act Locally. **Trends in Plant Science** 22:909–911. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.09.004.
- Ballaré CL, Pierik R (2017) The shade-avoidance syndrome: multiple signals and ecological consequences. **Plant, Cell and Environment** 40: 2530–2543. DOI 10.1111/pce.12914.
- Barratt NM, Davies PJ (1996) Developmental and genotypic differences in the response of pea stem segments to auxin. **Plant Growth Regulation** 19: 67-76. DOI: 10.1007/BF00024404.
- Bianchetti RE, Lira BS, Monteiro SS, Demarco D, Purgatto E, Rothan C, Ross, M, Freschi L (2018) Fruit-localized phytochromes regulate plastid biogenesis, starch synthesis, and carotenoid metabolism in tomato. **Journal of Experimental Botany** 69:3573-3586. DOI: 10.1093/jxb/ery145.
- Boccalandro HE, Rugnone ML, Moreno JE, Ploschuk EL, Serna L, Yanovsky MJ, Casal JJ (2009) Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in Arabidopsis. **Plant Physiology** 150: 1083–1092. DOI: 10.1104/pp.109.135509.

Bush SM, Carriedo LG, Fulop D, Ichihashi Y, Covington MF, Kumar R, Ranjan A, Chitwood D, Headland L, Filiault DL, Jimenez-Gomez JM, Sinha NR, Maloof, JN (2015) Auxin signaling is a common factor underlying natural variation in tomato shade avoidance. **BioRxiv** 031088. DOI: 10.1101/031088.

Cagnola JI, Ploschuk E, Benech-Arnold T, Finlayson SA, Casal JJ (2012) Stem Transcriptome Reveals Mechanisms to Reduce the Energetic Cost of Shade-Avoidance Responses in Tomato. **Plant Physiology** 160:1110–1119. DOI: 10.1104/pp.112.201921.

Carabelli M, Possenti M, Sessa G, Ciolfi A, Sassi M, Morelli G, Ruberti I (2007) Canopy shade causes a rapid and transient arrest in leaf development through auxin-induced cytokinin oxidase activity. **Genes and Development** 21: 1863–1868. DOI: 10.1101/gad.432607.

Carlson, KD, Bhogale S, Drew A, Tomanek L, Madlung A (2019) Phytochrome A Regulates Carbon Flux in Dark Grown Tomato Seedlings. **Frontiers in Plant Science** 10:1-20. DOI: 10.3389/fpls.2019.00152.

Carvalho RF, Campos ML, Azevedo RA (2011b) The role of phytochrome in stress tolerance. **Journal of Integrative Plant Biology** 53: 920-929. DOI 10.1111/j.1744-7909.2011.01081.x.

Carvalho RF, Campos ML, Pino LE, Crestana SL, Zsögön A, Lima JE, Benedito VA, Peres LEP (2011a) Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods** 7: 1-14. DOI: 10.1186/1746-4811-7-18.

Carvalho RF, Quecini V, Peres LEP (2010b) Hormonal modulation of photomorphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom) hypocotyls: Physiological and genetic studies. **Plant Science** 178: 258–264. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.01.013.

Carvalho RF, Takaki M, Azevedo RA (2010a) Plant pigments: The many faces of light perception. **Acta Physiologiae Plantarum** 33: 241-248. DOI: 10.1007/s11738-010-0533-7.

Casal JJ (2012) Shade Avoidance. **The Arabidopsis Book** 10: e0157 (1-19). DOI:10.1199/tab.0157.

Casal JJ (2013) Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. **Annual Review of Plant Biology** 64:403–427. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050312-120221.

Casal JJ, Sánchez RA (1998) Phytochromes and seed germination. **Seed Science Research** 8: 317-329. DOI: 10.1017/S0960258500004256.

Casal JJ, Sanchez RA, Botto JF (1998) Modes of action of phytochromes. **Journal of Experimental Botany** 49: 127-138. DOI: 10.1093/jxb/49.319.127.

Chitwood DH, Kumar R, Ranjan A, Pelletier JM, Townsley BT, Ichihashi Y, Martínez CC, Zumstein K, Harada JJ, Maloof JN, Sinha NR (2015) Light-induced indeterminacy alters shade-avoiding tomato leaf morphology. **Plant Physiology** 169:2030–2047. DOI: 10.1104/pp.15.01229.

Coenen C, Lomax TL (1998) The *Diageotropica* gene differentially affects auxin and cytokinin responses throughout development in tomato. **Plant Physiology** 117: 63–72. DOI: 10.1104/pp.117.1.63.

Collett CE, Harberd NP, Leyser O (2000) Hormonal interactions in the control of *Arabidopsis* hypocotyl elongation. **Plant Physiology** 124: 553- 561. DOI: 10.1104/pp.124.2.553.

Cominelli E, Gusmaroli G, Allegra D, Galbiati M, Wade HK, Jenkins GI, Tonelli C (2008) Expression analysis of anthocyanin regulatory genes in response to different light qualities in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Physiology** 165: 886-894. DOI: 10.1016/j.jplph.2007.06.010.

Cruz AB, Bianchetti RE, Alves FRR, Purgatto E, Peres LEP, Rossi M, Freschi L. (2018) Light, ethylene and auxin signaling interaction regulates carotenoid biosynthesis during tomato fruit ripening. **Frontiers in Plant Science** 9: 1-23 Article 1370. DOI: 10.3389/fpls.2018.01370.

de Wit M, Galvão V, Fankhauser C (2016a) Light-mediated hormonal regulation of plant growth and development. **Annual Review of Plant Biology** 67: 513-537. DOI: 10.1146/annurev-arplant-043015-112252.

de Wit M, George GM, Ince YÇ, Dankwa-Egli B, Hersch M, Zeeman SC, Fankhauser C (2018) Changes in resource partitioning between and within organs support growth adjustment to neighbor proximity in *Brassicaceae* seedlings. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 115: E9953-E9961. DOI: 10.1073/pnas.1806084115.

de Wit M, Keuskamp DH, Bongers FJ, Hornitschek P, Gommers CMM, Reinen E, Martínez-Cerón C, Fankhauser C, Pierik R (2016b) Integration of phytochrome and cryptochrome signals determines plant growth during competition for light. **Current Biology** 26: 1-7. DOI: 10.1016/j.cub.2016.10.031.

de Wit M, Lorrain S, Fankhauser C (2013) Auxin-mediated plant architectural changes in response to shade and high temperature. **Physiologia Plantarum** 151: 13-24. DOI: 10.1111/ppl.12099.

Devlin PF, Yanovsky MJ, Kay SA (2003) A Genomic Analysis of the Shade Avoidance Response in Arabidopsis. **Plant Physiology** 133:1617–1629. DOI: 10.1104/pp.103.034397.

Du J, Jiang H, Sun X, Li Y, Liu Y, Sun M, Fan Z, Cao Q, Feng L, Shang J, Shu K, Liu J, Yang F, Liu W, Yong T, Wang X, Yuan S, Yu L, Liu C, Yang W (2018) Auxin and gibberellins are required for the Receptor-Like Kinase ERECTA regulated hypocotyl elongation in shade avoidance in Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science** 9:1-12. Article 124. DOI: 10.3389/fpls.2018.00124.

Ferreira DF (2015) Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia** 38: 109-112. DOI: 10.1590/S1413-70542014000200001.

Fischer I, Camus-Kulandaivelu L, Allal F, Stephan W (2011) Adaptation to drought in two wild tomato species: The evolution of the Asr gene family. **New Phytologist** 190:1032–1044. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03648.x.

Frankel N, Carrari F, Hasson E, Iusem ND (2006) Evolutionary history of the Asr gene family. **Gene** 378:74–83. DOI: 10.1016/j.gene.2006.05.010.

Franklin KA (2008) Shade avoidance. **The New phytologist** 79:930–944. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x.

Franklin KA (2016) Photomorphogenesis: Plants Feel Blue in the Shade. **Current Biology** 26: R1275-R1276. DOI: 10.1016/j.cub.2016.10.039. DOI: 10.1016/j.cub.2016.10.039.

Franklin KA, Allen T, Whitelam GC (2007) Phytochrome A is an irradiance-dependent red light sensor. **Plant Journal** 50: 108–117. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03036.x.

Franklin KA, Praekelt U, Stoddart WM, Billingham OE, Halliday KJ, Whitelam GC (2003) Phytochromes B, D, and E act redundantly to control multiple physiological responses in Arabidopsis. **Plant Physiology** 131: 1340-1346. DOI: 10.1104/pp.102.015487.

Franklin KA, Quail PH (2010) Phytochrome functions in Arabidopsis development. **Journal of Experimental Botany** 61:11–24. DOI: 10.1093/jxb/erp304.

Fraser DP, Hayes S, Franklin KA (2016) Photoreceptor crosstalk in shade avoidance. **Current Opinion in Plant Biology** 33:1-7. DOI: 10.1016/j.pbi.2016.03.008. DOI: 10.1016/j.pbi.2016.03.008.

Galvão VC, Fankhauser C (2015) Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. **Current Opinion in Neurobiology** 34: 46-53. DOI: 10.1016/j.conb.2015.01.013.

Gavassi MA, Monteiro CC, Campos ML, Melo HC, Carvalho RF (2017) Phytochromes are key regulators of abiotic stress responses in tomato. **Scientia Horticulturae** 222: 126–135. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.04.035.

Golan I, Dominguez PG, Konrad Z, Shkolnik-Inbar D, Carrari F, Bar-Zvi D (2014) Tomato ABCISIC ACID STRESS RIPENING (ASR) Gene Family Revisited. **PLoS ONE** 9:e107117. DOI: 10.1371/journal.pone.0107117.

Halliday KJ, Martínez-García JF, Josse EM (2009) Integration of light and auxin signaling. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology** 1. a001586. DOI: 10.1101/cshperspect.a001586.

Hayes S, Pantazopoulou CK, van Gelderen K, Reinen E, Tween AL, Sharma A, Vries M, Prat S, Schuurink RC, Testerink C, Pierik R (2019) Soil Salinity Limits Plant Shade Avoidance. **Current Biology** 29: 1669-1676. DOI: 10.1016/j.cub.2019.03.042.

Hayes S, Velanis CN, Jenkins GI, Franklin KA (2014) UV-B detected by the UVR8 photoreceptor antagonizes auxin signaling and plant shade avoidance. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 111: 11894-11899. DOI: 10.1073/pnas.1403052111.

Hersch M, Lorraina S, Witc M, Trevisanc M, Ljungd K, Bergmanna S, Fankhauser, C (2014) Light intensity modulates the regulatory network of the shade avoidance response in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 111: 6515–6520. DOI: 10.1073/pnas.1320355111.

Hornitschek PK, Markus V, Lorrain S, Rougemont J, Ljung K, López-Vidriero I, Franco-Zorrilla JM, Solano R, Trevisan M, Pradervand S, Xenarios I, Fankhauser C (2012) Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. **The Plant Journal** 71:699–711. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.05033.x.

Husaineid, SSH, Kok RA, Schreuder MEL, Hanumappa M, Cordonnier-Pratt M-M, Pratt LH, van der Plas LHW, van der Krol AR (2007) Overexpression of homologous phytochrome genes in tomato: exploring the limits in photoperception. **Journal of Experimental Botany** 58: 615–626. DOI: 10.1093/jxb/erl253.

Iglesias MJ, Sellaro R, Zurbriggen MD, Casal JJ (2017) Multiple links between shade avoidance and auxin networks. **Journal of Experimental Botany** 69:213–228. DOI: 10.1093/jxb/erx295.

Inagaki N, Kinoshita K, Kagawa T, Tanaka A, Ueno O, Shimada H, Takano M (2015) Phytochrome B Mediates the Regulation of Chlorophyll Biosynthesis through transcriptional regulation of *ChlH* and *GUN4* in rice seedlings. **PLOS ONE** 10:1-22. DOI: 10.1371/journal.pone.0135408.

Ivanchenko MG, Zhu J, Wang B, Medvecká E, Du Y, Azzarello E, Mancuso S, Megraw M, Filichkin S, Dubrovsky JG, Friml J, Geisler M (2015) The cyclophilin A DIAGEOTROPICA gene affects auxin transport in both root and shoot to control lateral root formation. **Development** 142: 712-721. DOI: 10.1242/dev.113225.

Jaillais Y, Chory J (2010) Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration. **Nature Structural & Molecular Biology** 17: 642-645. DOI: 10.1038/nsmb0610-642.

Jefferson R, Kavanagh T, Bevan M (1987) GUS fusions: β -glucuronidase as a sensitive and versatile gene marker in higher plants. **The EMBO Journal** 6:3901–3907. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1987.tb02730.x.

Jensen PJ, Hangarter RP, Estelle M (1998) Auxin transport is required for hypocotyl elongation in light-grown but not dark-grown Arabidopsis. **Plant Physiology** 116: 455–462. DOI: 10.1104/pp.116.2.455.

Jia KP, Luo Q, He SB, Lu XD, Yang HQ (2014) Strigolactone-regulated hypocotyl elongation is dependent on cryptochrome and phytochrome signaling pathways in Arabidopsis. **Molecular Plant** 7: 528–540. DOI: 10.1093/mp/sst093.

Katekar GF, Geissler A (1980) Auxin Transport Inhibitors. IV. Evidence of a common mode of action for a proposed class of auxin transport inhibitors: The phytotropins. **Plant Physiology** 66:1190-1195. DOI: 10.1104/pp.66.6.1190.

Kerbauy GB (Eds.) (2019) Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 4020p.

Kerckhoffs LHJ, Kelmenson PM, Schreuder MEL, Kendrick CI, Kendrick RE, Hanhart CJ, Koornneef M, Pratt LH, Cordonnier-Pratt M-M (1999) Characterization of the gene encoding the apoprotein of phytochrome B2 in tomato, and identification of molecular lesions in two mutant alleles. **Molecular and General Genetics MGG** 261:901–907. DOI: 10.1007/s004380051037.

Kerckhoffs LHJ, Schreuder MEL, van Tuinen A, Koornneef M, Kendrick RE (1997) Phytochrome Control of Anthocyanin Biosynthesis in Tomato Seedlings: Analysis Using Photomorphogenic Mutants. **Photochemistry and Photobiology** 65: 374-381. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1997.tb08573.x.

Keuskamp DH, Pollmann S, Voesevika LACJ, Peeters AJM, Pierika R (2010) Auxin transport through PIN-FORMED 3 (PIN3) controls shade avoidance and fitness during competition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 107: 22740–22744. DOI: 10.1073/pnas.1013457108.

Kharshiing E, Sinha SP (2016) Deficiency in phytochrome A alters photosynthetic activity, leaf starch metabolism and shoot biomass production in tomato. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology** 165: 157–162. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.026.

Kobayashi K, Baba S, Obayashi T, Sato M, Toyooka K, Keranen M, Aro EM, Fukaki H, Ohta H, Sugimoto K, Masuda T (2012) Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in Arabidopsis. **Plant Cell** 24: 1081–1095. DOI: 10.1105/tpc.111.092254.

Kobayashi K, Ohnishi A, Sasaki D, Fujii S, Iwase, A., Sugimoto, K., Masuda T, Wada H (2017) Shoot removal induces chloroplast development in roots via cytokinin signaling. **Plant Physiology** 173: 2340–2355. DOI: 10.1104/pp.16.01368.

Kozuka T, Kobayashi J, Horiguchi G, Demura T, Sakakibara H, Tsukaya H, Nagatani A (2010) Involvement of Auxin and Brassinosteroid in the Regulation of Petiole Elongation under the Shade. **Plant Physiology** 153:1608-1618. DOI: 10.1104/pp.110.156802.

Kraepiel Y, Agnès C, Thiery L, Maldiney R, Miginiac E, Delarue M (2001) The growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) hypocotyls in the light and in darkness differentially involves auxin. **Plant Science** 161:1067–1074. DOI: 10.1016/S0168-9452(01)00495-2.

Krahmer J, Ganpudi A, Abbas A, Romanowski A, Halliday KJ (2018) Phytochrome, carbon sensing, metabolism, and plant growth plasticity. **Plant Physiology** 176: 1039–1048. DOI: 10.1104/pp.17.01437.

Kutschera U, Briggs WR (2013) Seedling development in buckwheat and the discovery of the photomorphogenic shade-avoidance response. **Plant Biology** 15:931-940. DOI: 10.1111/plb.12077.

Legris M, Ince YÇ, Fankhauser C (2019) Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. **Nature Communications** 10:1–15. DOI: 10.1038/s41467-019-13045-0.

Leivar P, Monte E (2014) PIFs: Systems integrators in plant development. **Plant Cell** 26:56–78. DOI: 10.1105/tpc.113.120857.

Li L, Ljung K, Breton G, Schmitz RJ, Pruneda-Paz J, Cowing-Zitron C, Cole BJ, Ivans LJ, Pedmale UV, Jung H-S, Ecker JR, Kay SA, Chory J (2012) Linking photoreceptor excitation to changes in plant architecture. **Genes and Development** 26:785–790. DOI: 10.1101/gad.187849.112.

Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Meth Enzyme** 148: 350-382. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.

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. DOI: 10.1007/s11103-011-9860-3.

Liu X, Cohen JD, Gardner G (2011) Low-fluence red light increases the transport and biosynthesis of auxin. **Plant Physiology** 157: 891 – 904. DOI: 10.1104/pp.111.181388.

Liu X, Li Y, Zhong S (2017) Interplay between light and plant hormones in the control of Arabidopsis seedling chlorophyll biosynthesis. **Frontiers in Plant Science** 8: 1-6 Article 1443. Doi: 10.3389/fpls.2017.01433.

López-Juez E, Buurmeijer WF, Heeringa GH, Kendrick RE, Wesselius JC (1990) Response of light-grown wild-type and long hypocotyl mutant cucumber plants to end-of-day far-red light. **Photochemistry and Photobiology**, 52:143–149. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1990.tb01767.x.

Lorrain S, Allen T, Duek PD, Whitelam GC, Fankhauser C (2007) Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. **The Plant Journal** 53: 312–323. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03341.x.

Ma L, Li G (2019) Auxin-dependent cell elongation during the shade avoidance response. **Frontiers in Plant Science** 10:1-8 Article 914 DOI.org/10.3389/fpls.2019.00914.

Mannucci A, Mariotti L, Castagna A, Santin M, Trivellini A, Reyes TH, Mensuali-Sodi A, Ranieri A, Quartacci MF (2020) Hormone profile changes occur in roots and leaves of Micro-Tom tomato plants when exposing the aerial part to low doses of UV-B radiation. **Plant Physiology and Biochemistry** 148:291–301. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.030.

Mano Y, Nemoto K (2012) The pathway of auxin biosynthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*. 63: 2853-2872. DOI: 10.1093/jxb/ers091.

Martí E, Gisbert C, Bishop GJ, Dixon MS, García-Martínez JL (2006) Genetic and physiological characterization of tomato cv. Micro-Tom. **Journal of Experimental Botany** 57:2037–2047. DOI: 10.1093/jxb/erj154.

Martínez-García JF, Gallemí M, Molina-Contreras MJ, Llorente B, Bevilaqua MRR, Quail PH (2014) The shade avoidance syndrome in *Arabidopsis*: The antagonistic role of phytochrome A and B differentiates vegetation proximity and canopy shade. **Plos One**. DOI: 10.1371/journal.pone.0109275. DOI: 10.1371/journal.pone.0109275.

Martínez-García JF, Galstyan A, Salla-Martret M, Cifuentes-Esquivel N, Gallemí M, Bou-Torrent J (2010) Regulatory components of shade avoidance syndrome. **Advances in Botanical Research** 53: 65–116. DOI: 10.1016/S0065-2296(10)53003-9.

Mashiguchi K, Tanaka K, Sakai T, Sugawara S, Kawaide H, Natsume M, Hanada A, Yaeno T, Shirasu K, Yao H, McSteen P, Zhao Y, Hayashi K-I, Kamiya Y, Kasahara H (2011) The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 108:18512–18517. DOI: 10.1073/pnas.1108434108.

Mereb EL, Alves FRR, Rezende MH, Oliveira EJ, Carvalho RF, Melo HC (2020) Morphophysiological responses of tomato phytochrome mutants under sun and shade conditions. **Brazilian Journal of Botany** 43: 45-54 DOI: 10.1007/s40415-020-00584-w.

Morelli G, Ruberti I (2000) Shade avoidance responses. Driving auxin along lateral routes. **Plant Physiology** 122: 621–626. DOI: 10.1104/pp.122.3.621.

Müller A, Weiler EW (2000) Indolic constituents and indole-3-acetic acid biosynthesis in the wild-type and a tryptophan auxotroph mutant of *Arabidopsis thaliana*. **Planta** 211: 855-863. DOI: 10.1007/s004250000353.

Muramoto T, Kami C, Kataoka H, Iwata N, Linley PJ, Mukougawa K, Yokota A, Kohchi T (2005) The tomato photomorphogenetic mutant, *aurea*, is deficient in phytochromobilin synthase for phytochrome chromophore biosynthesis. **Plant and Cell Physiology** 46: 661–665. DOI: 10.1093/pcp/pci062.

Nagatani A, Chory J, Furuya M (1991) Phytochrome B is not detectable in the *hy3* mutant of Arabidopsis, which is deficient in responding to end-of-day far-red light treatments. **Plant and Cell Physiology** 32:1119-112. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078177.

Nagatani A, Reed JW, Chory J (1993) Isolation and initial characterisation of Arabidopsis mutants that are deficient in functional phytochrome A. **Plant Physiology** 102:269-277. DOI: 10.1104/pp.102.1.269.

Neff MM, Van Volkenburgh E (1994) Light-stimulated cotyledon expansion in Arabidopsis seedlings: The role of phytochrome B. **Plant Physiology** 104:1027-1032. DOI: 10.1104/pp.104.3.1027.

Nongmaithem S, Devulapalli S, Sreelakshmi Y, Sharma R (2020) Is naphthylphthalamic acid a specific phytochrome? It elevates ethylene and alters metabolic homeostasis in tomato. **Plant Science** 291:1-11 Article:110358. DOI: 10.1101/311159.

Oh K, Ivanchenko MG, White TJ, Lomax TL (2006) The *diageotropica* gene of tomato encodes a cyclophilin: a novel player in auxin signaling. **Planta** 224:133–144. DOI: 10.1007/s00425-005-0202-z.

Park JE, Seo PJ, Lee AK, Jung JH, Kim YS, Park CM (2007) An Arabidopsis *GH3* gene, encoding an auxin-conjugating enzyme, mediates phytochrome B-regulated light signals in hypocotyl growth. **Plant and Cell Physiology** 48:1236–1241. DOI: 10.1093/pcp/pcm086.

Parks BM, Quail PH (1993) *hy8*, a new class of Arabidopsis long hypocotyl mutants deficient in functional phytochrome A. **The Plant Cell** 3:39–48. DOI: 10.1105/tpc.5.1.39.

Patel D, Basu M, Hayes S, Majláth I, Hetherington FM, Tschaplinski TJ, Franklin KA (2013) Temperature-dependent shade avoidance involves the receptor-like kinase ERECTA. **The Plant Journal** 73:980-992. DOI: 10.1111/tpj.12088.

Pattison RJ, Catala C (2012) Evaluating auxin distribution in tomato (*Solanum lycopersicum*) through an analysis of the PIN and AUX/LAX gene families. **The Plant Journal** 70:585–598. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2011.04895.x.

Pedmale UV, Huang S-SC, Zander M, Cole BJ, Hetzel J, Ljung K, Reis PAB, Sridevi P, Nito K, Nery JR, Ecker JR, Chory J (2016) Cryptochromes Interact Directly with PIFs to Control Plant Growth in Limiting Blue Light. **Cell** 164:233–245. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.018.

Peters JL, van Tuinen A, Adamse P, Kendrick RE, Koornneef M (1989) High pigment mutants of tomato exhibit high sensitivity for phytochrome action. **Journal of Plant Physiology** 134: 661-666. DOI: 10.1016/S0176-1617(89)80024-0.

Pierik R, de Wit M (2013) Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. **Journal of Experimental Botany** 65: 2815–2824. DOI: 10.1093/jxb/ert389.

Pratt LH, Cordonnier-Pratt MM, Kelmenson PM, Lazarova GI, Kubota T, Alba RM (1997) The phytochrome gene family in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Plant, Cell and Environment** 20:672–677. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-119.x.

Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ, Blanchard-Gros R, Bigot S, Martínez JP, Lutts S (2019) Tomato Fruit Development and Metabolism. **Frontiers in Plant Science** 10:1-23. DOI: 10.3389/fpls.2019.01554.

Ranjan A, Ichihashi Y, Sinha NR (2012) The tomato genome: Implications for plant breeding, genomics and evolution. **Genome Biology** 13:1-8. DOI: 10.1186/gb-2012-13-8-167.

Reed JW, Nagpal P, Poole DS, 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. **The Plant Cell** 5: 147-157. DOI: 10.1105/tpc.5.2.147.

Rodríguez-Villalón A, Gas E, Rodríguez-Concepción M (2009) Phytoene synthase activity controls the biosynthesis of carotenoids and the supply of their metabolic precursors in dark-grown Arabidopsis seedlings. **The Plant Journal** 60: 424–435. Doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03966.x

Roig-Villanova I, Martínez-García JF. (2016) Plant responses to vegetation proximity: A whole life avoiding shade. **Frontiers in Plant Science** 7:1–10. DOI: 10.3389/fpls.2016.00236.

Rosado D, Gramegna G, Cruz A, Lira BS, Freschi L, De Setta N, Rossi M (2019) Downregulation of PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4 Influences Plant Development and Fruit Production. **Plant Physiology** 181:1360–1370. DOI: 10.1104/pp.19.00833.

Rosado D, Gramegna G, Cruz A, Lira BS, Freschi L, Setta N, Rossi M. (2016) Phytochrome Interacting Factors (PIFs) in *Solanum lycopersicum*: Diversity, evolutionary history and expression profiling during different developmental processes. **PLoS ONE** 11:1-26. DOI: 10.1371/journal.pone.0165929.

Ruzza V, Sessa G, Sassi M, Morelli G, Ruberti I (2014) Auxin Coordinates Shoot and Root Development During Shade Avoidance Response. In.: Zažímalová E, Petrasek J, Benková E, (eds.) **Auxin and Its Role in Plant Development**. Wien: Springer, p. 389–412. DOI: 10.1007/978-3-7091-1526-8_17.

Saniewski M, Góraj J, Wegrzynowicz-Lesiak E, Miyamoto K, Ueda J. (2014) Differential effects of auxin polar transport inhibitors on rooting in some *Crassulaceae* species. **Acta Agrobotanica** 67:85–92. DOI: 10.5586/aa.2014.028.

Sant'ana DVP, Lefsrud M (2018) Tomato proteomics: Tomato as a model for crop proteomics. **Scientia Horticulturae** 239:224–233. DOI 10.1016/j.scienta.2018.05.041. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.05.041.

Schrager-Lavelle A, Herrera LA, Maloof JN (2016) Tomato phyE is required for shade avoidance in the absence of phyB1 and phyB2. **Frontiers in Plant Science** 7:1275 (1-9). DOI: 10.3389/fpls.2016.01275. DOI: 10.3389/fpls.2016.01275.

Sessa G, Carabelli M, Possenti M, Morelli G, Ruberti I (2018) Multiple pathways in the control of the shade avoidance response. **Plants** 7:102. Doi: 10.3390/plants7040102.

Shikata M, Hoshikawa K, Ariizumi T, Fukuda N, Yamazaki Y, Ezura H (2016) TOMATOMA Update: Phenotypic and Metabolite Information in the Micro-Tom Mutant Resource. **Plant and Cell Physiology** 57:1-10. DOI: 10.1093/pcp/pcv194.

Shin J, Kim K, Kang H, Zulfugarov IS, Bae G, Lee C-H, Lee D, Choi G (2009) Phytochromes promote seedling light responses by inhibiting four negatively-acting phytochrome-interacting factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 106: 7660–7665. DOI: 10.1073/pnas.0812219106.

Silva WB, Medeiros DB, Rodrigues-Salvador A, Daloso DM, Omena-Garcia RP, Oliveira FS, Pino LE, Peres LEP, Nunes-Nesi A, Fernie AR, Zsögön A, Araújo WL (2018a) Modulation of auxin signalling through DIAGETROPICA and ENTIRE differentially affects tomato plant growth via changes in photosynthetic and mitochondrial metabolism. **Plant, Cell and Environment** 2018:1 – 18. DOI: 10.1104/pp.18.00038.

Silva WB, Vicente MH, Robledo JM, Reartes DS, Ferrari RC, Bianchetti R, Araújo WL, Freschi L, Peres LEP, Zsögön A. (2018b) SELF-PRUNING acts synergistically with DIAGEOTROPICA to guide auxin responses and proper growth form. **Plant Physiology** 176: 2904-2916. DOI: 10.1111/pce.13413

Smith H (1982) Light Quality, Photoperception, and Plant Strategy. **Annual Review of Plant Physiology** 33: 481-518. DOI: 10.1146/annurev.pp.33.060182.002405. DOI: 10.1146/annurev.pp.33.060182.002405.

Smith H (1995) Physiological and ecological function within the phytochrome Family. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 46:289-315. DOI: 10.1146/annurev.pp.46.060195.001445.

Somers DE, Sharrock RA, Tepperman JM, Quail PH (1991) The *hy3* long hypocotyl mutant of *Arabidopsis* is deficient in phytochrome B. **The Plant Cell** 3: 1263–1274. DOI: 10.2307/3869307.

Stephenson PG, Fankhauser C, Terry MJ (2009) PIF3 is a repressor of chloroplast development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 106: 7654–7659. DOI: 10.1073/pnas.0811684106.

Stephenson PG, Terry MJ (2008) Light signalling pathways regulating the Mg-chelatase branchpoint of chlorophyll synthesis during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana*. **Photochemical and Photobiological Sciences** 7: 1243–1252. DOI: 10.1039/b802596g.

Takaki M (2001) New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 13: 104-108. DOI: 10.1590/S0103-31312001000100011.

Tao Y, Ferrer JL, et al. (2008) Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan dependent pathway is required for shade avoidance in plants. **Cell** 133:164–176. DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.049

Teale W, Palme K (2017) Naphthylphthalamic acid and the mechanism of polar auxin transport. **Journal of Experimental Botany** 69:303–312. DOI: 10.1093/jxb/erx323.

Thomas B, Murray BG, Murphy DJ (Eds) (2017) Encyclopedia of Applied Plant Sciences. Amsterdam: Academic Press, 1706p.

Toledo-Ortiz G, Huq E, Rodríguez-Concepcion M (2010) Direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome - interacting factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 107: 11626–11631. Doi: 10.1073/pnas.0914428107.

Toledo-Ortiz G, Johansson H, Lee KP, Bou-Torrent J, Stewart K, Steel G, Rodríguez-Concepcion M, Halliday KJ (2014) The HY5-PIF regulatory module coordinates light and temperature control of photosynthetic gene transcription. **PLOS Genetics** 10: 1 – 14 e1004416. Doi: 10.1371/journal.pgen.1004416.

Tsukaya H, Kozuka T, Kim GT (2002) Genetic control of petiole length in *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology** 43: 1221–1228. DOI: 10.1093/pcp/pcf147.

Ugarte CC, Trupkin AS, Ghiglione H, Slafer G, Casal JJ (2010) Low red/far-red ratios delay spike and stem growth in wheat. **Journal of Experimental Botany** 61:3151–3162. DOI: 10.1093/jxb/erq140.

Van Tuinen A, Hanhart CJ, Kerckhoff LHJ, Nagatan A, Boylan MT, Quail PH, Kendrick RE, Koornneef M (1996) Analysis of phytochrome-deficient yellow-green-2 and aurea mutants of tomato. **The Plant Journal** 9:173-182.

Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M (1995a) Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficient mutants of tomato. **Molecular Genetics and Genomics** 246:133-141. DOI: 10.1007/BF00294675.

Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M (1995b) A temporarily red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. **Plant Physiology** 108: 939-947. DOI: 10.1104/pp.108.3.939.

Van Volkenburgh E (1999) Leaf expansion – an integrating plant behaviour. **Plant, Cell and Environment** 22: 1463–1473. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1999.00514.x.

Velez-Ramirez AI, Vreugdenhil D, Millenaar FF, van Ieperen W (2019) Phytochrome A Protects Tomato Plants From Injuries Induced by Continuous Light. **Frontiers in Plant Science** 10:Article 19. DOI: 10.3389/fpls.2019.00019.

Wang H, Jones B, Li Z, Frasse P, Delalande C, Regad F, Chaabouni S, Latche A, Pech JC, Bouzayena M (2005) The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis. **The Plant Cell** 17: 2676-2692. DOI: 10.1105/tpc.105.033415.

Weller JL, Schreuder ME, Smith H, Koornneef M, Kendrick RE (2000) Physiological interactions of phytochromes A, B1 and B2 in the control of development in tomato. **The Plant Journal** 24: 345-356. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2000.00879.x.

Whitelam GC, Johnson E, Peng J, Carol P, Anderson MC, Cowl JS, Harberd NP (1993) Phytochrome A null mutants of *Arabidopsis* display a wild-type phenotype in white light. **The Plant Cell** 5:757–768. DOI: 10.1105/tpc.5.7.757.

Xu F, He S, Zhang J et al. (2018) Photoactivated CRY1 and phyB Interact Directly with AUX/IAA Proteins to Inhibit Auxin Signaling in *Arabidopsis*. **Molecular Plant** 11: 523-541. DOI: 10.1016/j.molp.2017.12.003.

Yang C, Li L (2017) Hormonal Regulation in shade avoidance. **Frontiers in Plant Science** 8:127 (1-8). DOI: 10.3389/fpls.2017.01527.

Yang C, Xie F, Jiang Y, Li Z, Huang X, Li L (2018) Phytochrome A negatively regulates the shade avoidance response by increasing auxin/indole acetic acid protein stability. **Developmental Cell** 44: 29 – 41. DOI: 10.1016/j.devcel.2017.11.017.

Yang D, Seaton DD, Krahmer J, Halliday KJ (2016) Photoreceptor effects on plant biomass, resource allocation, and metabolic state. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 113: 7667–7672. DOI: 10.1073/pnas.1601309113.

Zažímalová E, Petrášek J, Benková E (Eds) (2014) Auxin and Its Role in Plant Development. Vienna: Springer Vienna, 444p.

Zhao Y (2018) Essential roles of local auxin biosynthesis in plant development and in adaptation to environmental changes. **Annual review of plant biology** 69:417–35. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042817-040226.

Zobel RW (1972) Genetics of the diageotropica mutant in the tomato. **Journal of Heredity** 63: 91–97. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a108241.

Zobel RW (1973) Some physiological characteristics of the ethylene-requiring tomato mutant Diageotropica. **Plant Physiology** 52: 385–389. DOI: 10.1104/pp.52.4.385.

Zobel RW (1974) Control of morphogenesis in the ethylene-requiring tomato mutant, diageotropica. **Canadian Journal of Botany** 52: 735–741. DOI: 10.1139/b74-095.

APÊNDICES

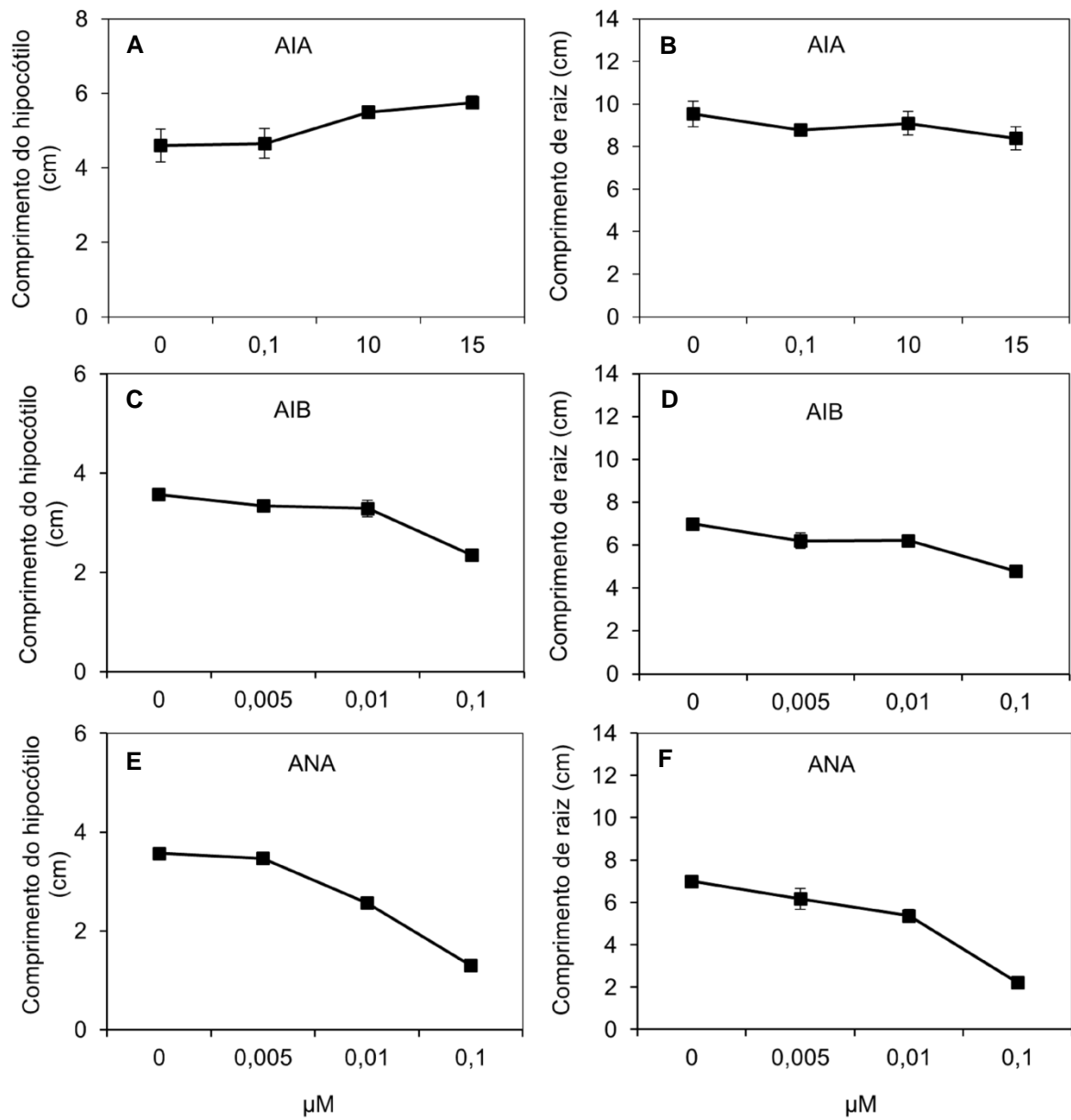


Figura 1A. Ação de diferentes fontes de auxinas exógena no comprimento do hipocótilo (A, C e E) e da raiz (B, D e F), aplicadas em plântulas de tomateiro MM. $n = 15 \pm \text{EP}$. Ácido indol-3-Acético (AIA), ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido 1-naftalenoacético (ANA).

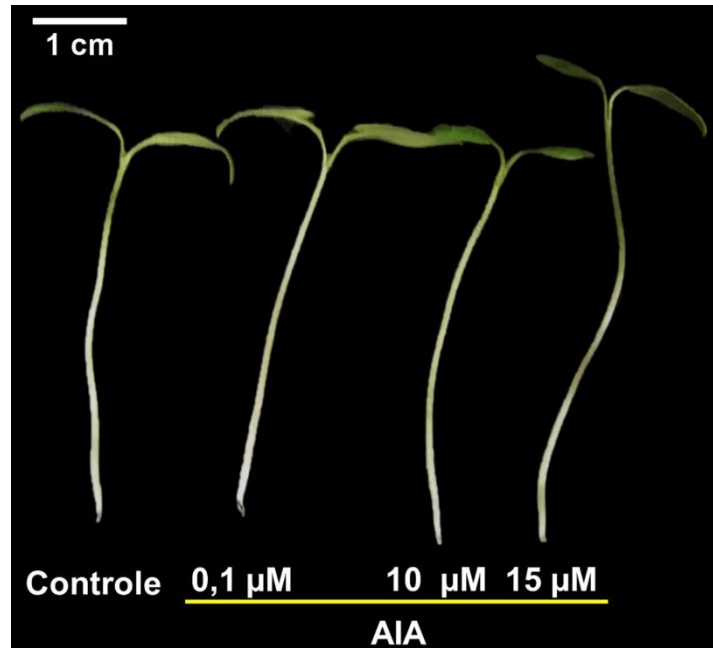


Figura 1B. Ação de diferentes concentrações de Ácido indol-3-Acético (AIA) exógeno no comprimento do hipocótilo, aplicadas em plântulas de tomateiro MM.

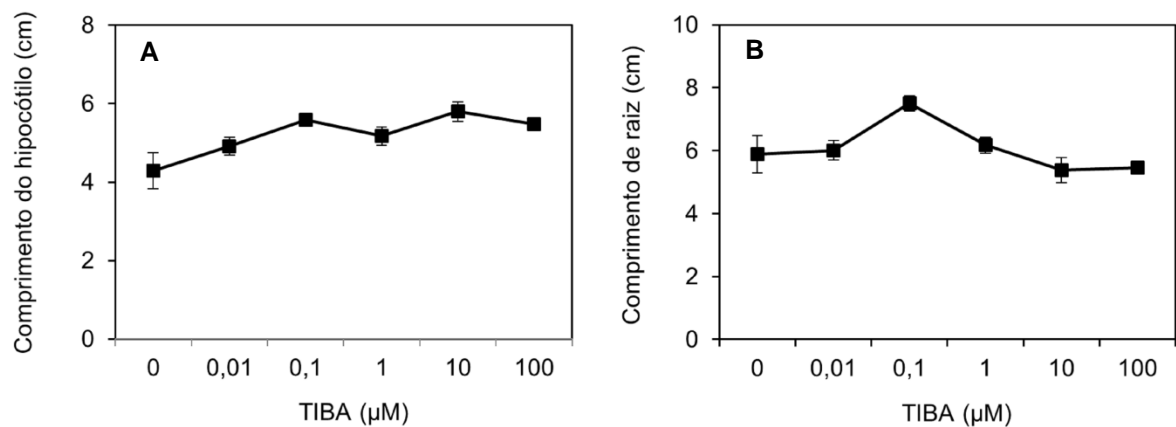


Figura 1C. Comprimento do hipocótilo (A) e da raiz (B), de plântulas de tomateiro MM com 10 dias após a semeadura, que receberam o inibidor do transporte de auxina TIBA durante cinco dias após a germinação e completo desestiolamento. $n \geq 20 \pm \text{EP}$.

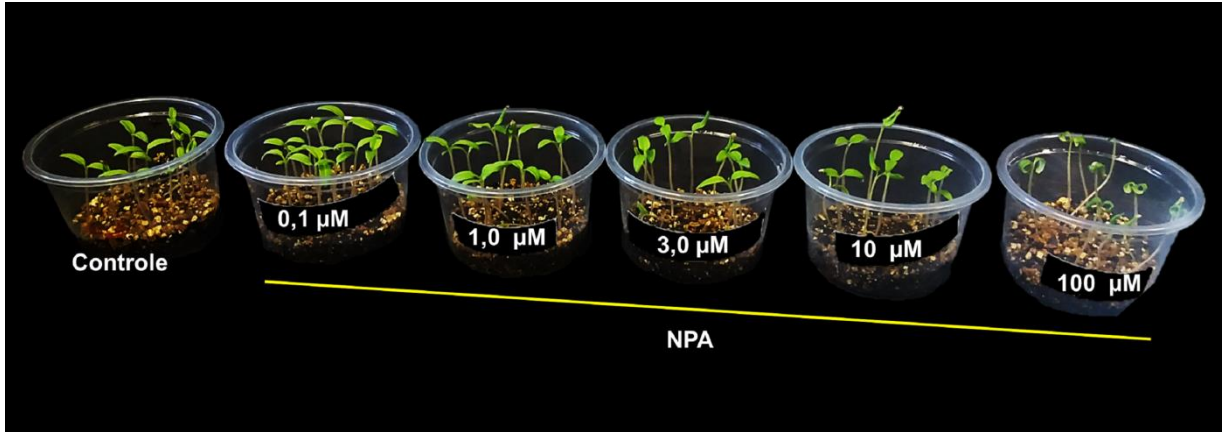


Figura 1D. Plântulas de tomateiro MM com 10 dias após a sementeira, que receberam o inibidor do transporte de auxina NPA durante cinco dias após a germinação e completo desestiolamento.

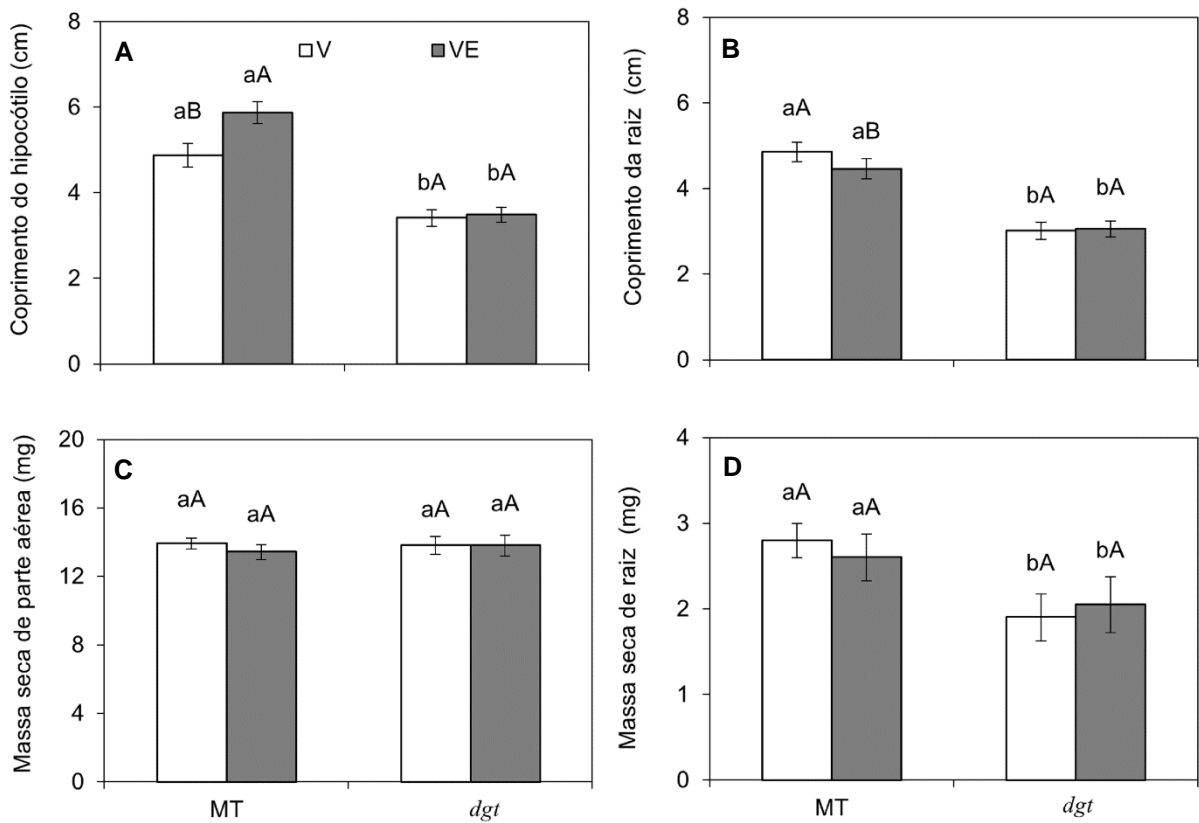


Figura 2A. Comprimento do hipocótilo (A) e raiz (B), massa seca de parte aérea (C) e de raiz (D) de plântulas de tomateiro MT e *dgt* germinadas no escuro (2 dias) e crescidas (8 dias) sob pulsos de vermelho (V) e vermelho extremo (VE) com duração de 3 minutos a cada 4 horas. $n = 4 \times 10 \pm EP$. As letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$) entre as médias, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas - comparação entre cultivares no mesmo ambiente de luz; letras maiúsculas - compara a mesma cultivar em ambiente de luz diferente.

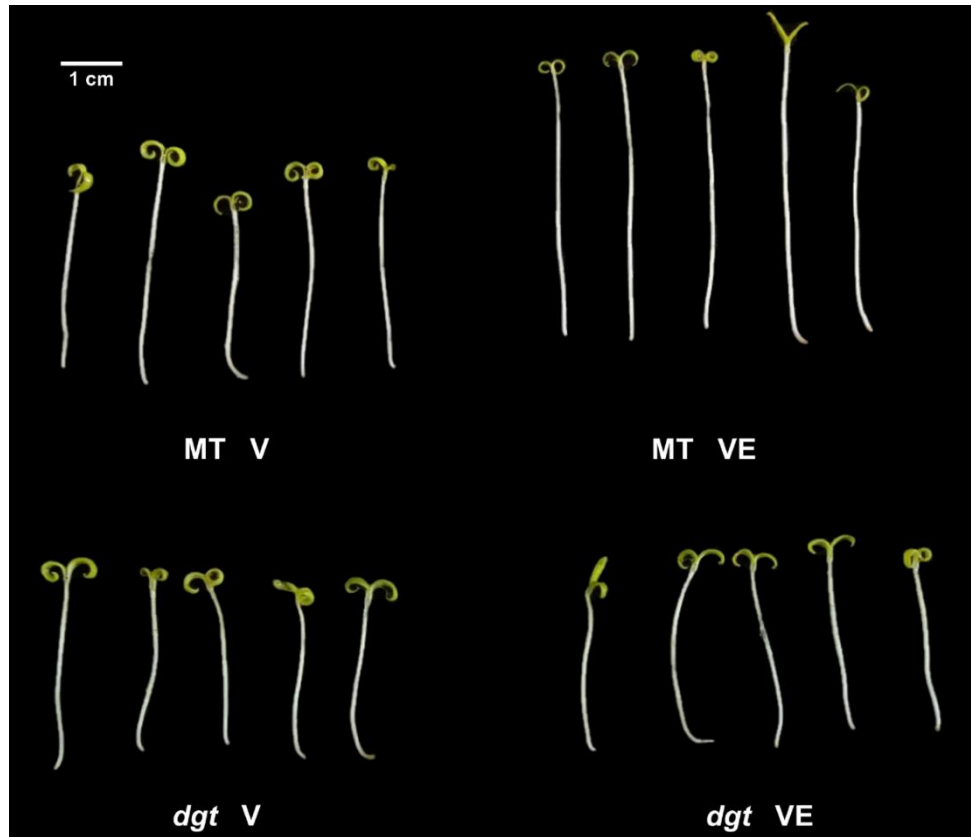


Figura 2B. Plântulas de tomateiro MT e *dgt* germinadas no escuro (2 dias) e crescidas (8 dias) sob pulsos de vermelho (V) e vermelho extremo (VE) com duração de 3 minutos a cada 4 horas.