

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO: DO SINAL
DA LUZ AZUL À AÇÃO DO CRIPTOCROMO 1A, ABA E GA**

Reginaldo de Oliveira
Engenheiro Agrônomo

2022

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

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO: DO SINAL
DA LUZ AZUL À AÇÃO DO CRIPTOCROMO 1A, ABA E GA**

Reginaldo de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Aparecido Gaion

**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)**

O48g	Oliveira, Reginaldo de Germinação de sementes de tomateiro: Do sinal da luz azul à ação do criptocromo 1a, ABA e GA / Reginaldo de Oliveira. -- Jaboticabal, 2022 107 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Rogério Falleiros Carvalho Coorientador: Lucas Aparecido Gaion 1. Fisiologia vegetal. 2. Bioquímica. 3. Indução enzimática. 4. Plantas Efeito da radiação solar. 5. Hormônios vegetais. 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.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO: DO SINAL DA LUZ AZUL À AÇÃO DO CRIPTOCROMO 1A, ABA E GA

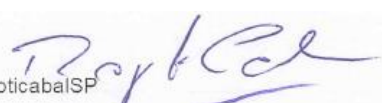
AUTOR: REGINALDO DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

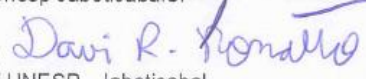
COORIENTADOR: LUCAS APARECIDO GAION

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

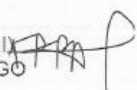
Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária / FCAVUnesp JaboticabalSP



Prof. Dr. DAVI RODRIGO ROSSATTO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



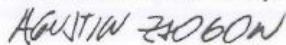
Prof. Dr. FREDERICO ROCHA RODRIGUES ALVES (Participação Virtual)
Universidade Federal de Goiás/ICB-UFG/Campus Samambaia / Goiânia/GO



Profa. Dra. LILIANE SANTOS DE CAMARGOS (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP/ Câmpus de Ilha Solteira



Prof. Dr. AGUSTÍN ZSÖGÖN (Participação Virtual)
Universidade Federal de Viçosa-UFV / Viçosa/MG



Jaboticabal, 29 de abril de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Reginaldo de Oliveira nascido em 16 de abril de 1987 em Terra Nova do Norte-MT, possui graduação em Agronomia pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Câmpus de Alta Floresta, em 2017. Durante a graduação, foi bolsista do Programa de Bolsas para iniciação científica (PIBIC) no ano de 2013 a 2014, e bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no período de 2015 a 2016. Em março de 2017, ingressou no Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação da Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho, concluído em 2019. Em março de 2019 ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, como bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), onde desenvolve trabalho voltado para germinação de sementes sob orientação do Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho.

À Deus por permitir que eu realizasse este sonho. Aos meus avós, Otacílio Muniz de Oliveira e Durvalina de Oliveira, que não tiveram a oportunidade de aprender a ler e escrever, mas que incansavelmente me incentivaram durante essa trajetória.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À DEUS fonte de toda sabedoria e inteligência, por iluminar sempre os melhores caminhos a seguir.

Aos meus pais, Pedro Cicero de Oliveira e Eneci Rissardi, por sempre me incentivarem a ir além do que imaginaria poder chegar.

Aos meus familiares, avós; Otacílio Muniz de Oliveira e Durvalina de Oliveira, tios (a); Lucimar e Nilson, Luiz, Paulo e José, pelas orações, torcida e exemplo de humildade. Aos meus primos, Gabriel e Otávio Renan, que mesmo tão jovens me incentivaram na realização desta etapa de minha vida.

À dona Pitucha, pelos seus clamores à Deus em favor da minha causa e caminhada.

Ao meu orientador professor Dr. Rogério Falleiros Carvalho, pela atenção, e grande paciência, dedicando todo seu conhecimento em prol da minha formação.

Ao meu coorientador, Lucas Aparecido Gaion, por ter disponibilizado seu tempo e conhecimento, auxiliando e ensinando.

À professora Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos e Dra. Priscila Lupino Grato, pelos ensinamentos e acolhida no Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Ao professor Dr. Luciano Freschi, pela oportunidade de aprendizado na Universidade de São Paulo (USP), disponibilizando seu laboratório para realização das análises moleculares. À Doutoranda, Letícia Danielle Longuini Gomes, que me auxiliou e ensinou em todas as etapas das análises moleculares.

À Soninha, pelas incansáveis vezes que me ajudou e ensinou durante a execução das análises laboratoriais.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, Marcia, Lucinda, Aldo e Martins, pela boa convivência e aprendizado de vida.

Ao Rafael Ferreira Barreto, por sua amizade e contribuições na escrita deste trabalho.

À Emilaine da Rocha Prado, por todo amor, parceria e apoio incondicional em todos os momentos.

Aos orientados do professor Dr. Rogério Falleiros Carvalho e meus contemporâneos, Carlos, Regiara, Mariana e Victor, pela amizade e por terem compartilhado um pouco de seus conhecimentos durante todo o tempo de execução do projeto.

Aos amigos e parceiros do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Clebson, Mirella, Lucas, Maiara e Gilmar, por todos os bons momentos de aprendizado e descontração que tivemos.

Ao programa de pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) pela oportunidade de cursar o Doutorado. À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pela acolhida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Página

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1.INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 O tomateiro	4
2.2 Mutantes de tomateiro como modelo biológico para estudo de germinação ...5	
2.3 Metabolismo e função do ABA e GA nas plantas	6
2.4 Regulação da germinação por luz e hormônios.....	9
2.5 Enzimas hidrolíticas de reserva em sementes.....	14
2.6 Interação entre luz e hormônios na atividade de enzimas hidrolíticas associadas a germinação	17
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Cultivares e produção de sementes	19
3.2 Condições de germinação	20
3.3 Extração e atividade de enzimas hidrolíticas.....	21
3.4 Quantificação de proteínas	22
3.5 Isolamento de RNA, síntese de cDNA e análise de expressão gênica por RT- PCR quantitativo	23
3.6 Análise histoquímica e espectrofotométrica da β -glucuronidase (GUS)	23
3.7 Esquema experimental e análise dos dados	24
4.RESULTADOS.....	26
4.1 Efeito da luz azul na taxa de germinação de sementes de tomateiro defeitivo na biossíntese do ABA e sinalização de GAs	26
4.2 Efeito da luz azul na atividade de hidrolases em sementes de tomateiro defectivo na biossíntese do ABA e sinalização de GAs	27
4.3 Efeito da luz azul na expressão de promotores de genes induzidos por GA e ABA30	
4.4 Efeito da sinalização da LA mediada pelo fotorreceptor cry1a na germinação ...31	
4.5 Efeito da sinalização da LA mediada pelo fotorreceptor cry1a na atividade de hidrolases em sementes de tomateiro	35

4.6 Efeitos da LA nos padrões de expressão de genes ligados a percepção da luz pelo cry1a e metabolismo das GAs e ABA nas sementes	41
5.DISSCUSSÃO	43
5.1 A inibição da germinação pela LA é dependente das vias de síntese de ABA, sinalização de GA e atividades das hidrolases	43
5.2 A expressão de promotores de genes responsivos ao ABA e GA são dependentes da condição de luz	44
5.3 O cry1a atenua os efeitos inibitórios da germinação de sementes de tomateiro sob LA.....	45
5.4 A regulação da atividade das hidrolases pela LA é dependente da sinalização mediada pelo cry1a.....	47
5.5 O cry1a medeia a repressão da germinação de sementes pela LA por meio de vias relacionadas ao metabolismo de ABA e GA.....	48
6.CONCLUSÕES	51
7.REFERÊNCIAS.....	52
APÊNDICES	68

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATEIRO: DO SINAL DA LUZ AZUL À AÇÃO DO CRIPTOCROMO 1A, ABA E GA

RESUMO - A germinação de sementes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é controlada por fatores externos, como a luz, e pelo balanço hormonal endógeno. Neste estudo, investigamos os efeitos do espectro de luz azul (LA) nos processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares durante a germinação de sementes de tomateiro. Os experimentos foram realizados em câmara de crescimento com diferentes intensidades de LA contínua (0 ou escuro; 1; 5; 10; 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Para todos os genótipos utilizados (cv. Micro-Tom, *notabilis* ou *not*, *procera* ou *pro*, MT-*pGA2Ox::GUS*, MT-*pRD29B::GUS*, Moneymaker e o mutante defeutivo para o criptocromo 1a ou *cry1a*) a taxa de germinação (G%) e índice de velocidade de germinação (IVG) foram maiores no escuro. Observamos também que todas as intensidades da LA inibiram parcialmente a germinação, aumentando o tempo para atingir 50% da germinação final / máxima (T50). Além disso, demonstramos que, tanto no escuro quanto na LA, a G% e o IVG são maiores nas sementes dos mutantes hormonais, *not* e *pro*, que o tipo controle MT. A atividade das hidrolases endo- β -mananase (EC 3.2.1.78), β -manosidase (EC 3.2.1.25) e α -galactosidase (EC 3.2.1.22) pode ser inibida pela LA nos genótipos Micro-Tom, *not* e *pro* nos estágios iniciais do processo de germinação. A perda de função do criptocromo 1a no mutante pode afetar negativamente a germinação sob LA. Além disso, observamos que a aplicação de 5 μmol de ácido giberélico (GA_3) não recupera a germinação do *cry1a* sob LA, enquanto 0,25 μmol de ácido abscísico (ABA) amplifica os efeitos negativos da LA na germinação desse genótipo. A atividade da endo- β -mananase foi menor no mutante *cry1a*, enquanto da α -galactosidase mostrou tendência de aumento, em relação ao Moneymaker. Além disso, algumas alterações nos níveis dos transcritos de genes induzidos pela LA relacionados ao metabolismo de GA e ABA, que podem ter efeito sobre a germinação, foram encontradas entre o mutante *cry1a* e Moneymaker. Em geral, o aumento da intensidade da LA retarda e altera negativamente a taxa de germinação das sementes. Os resultados mostrados neste estudo contribuem para o aumento na compreensão sobre os eventos induzidos pela LA para a fotorregulação da germinação de sementes de tomateiro.

Palavras-chave: Fotorreceptor, hidrolases, hormônios, mutantes, sementes, sinalização luminosa

TOMATO SEED GERMINATION: FROM THE BLUE LIGHT SIGN TO THE ACTION OF CRYPTOCHROME 1A, ABA AND GA

ABSTRACT - The germination of tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.) is controlled by external factors, such as light, and by the endogenous hormonal balance. In this study, we investigated the effects of the blue light (BL) spectrum on physiological, biochemical, and molecular processes during tomato seed germination. The experiments were conducted in a growth chamber with different intensities of continuous BL (0 or dark; 1; 5; 10; 15 and 25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). For all genotypes used (cv Micro-Tom, *notabilis* or *not*, *procera* or *pro*, MT-*pGA2Ox::GUS*, MT-*pRD29B::GUS*, cv MoneyMaker and the mutant defective for cryptochrome 1a or *cry1a*) the germination rate (G%) and germination speed index (GSI) were bigger in the dark. We also observed that all BL intensities partially inhibited germination, increasing the time to reach 50% of final/maximum germination (T50). Furthermore, we demonstrated that, both in the dark and in the BL, the G% and GSI are higher in the seeds of the hormonal mutants, *not* and *pro*, than the MT control type. The activity of endo- β -mannanase (EC 3.2.1.78), β -mannosidase (EC 3.2.1.25) and α -galactosidase (EC 3.2.1.22) hydrolases can be inhibited by LA in the Micro-Tom, *not* and *pro* genotypes in the stage's beginnings of the germination process. Loss of cryptochrome 1a function in the mutant can negatively affect germination under BL. Furthermore, we observed that the application of 5 μmol of gibberellic acid (GA_3) does not recover the germination of *cry1a* under BL, while 0.25 μmol of abscisic acid (ABA) amplifies the negative effects of BL on the germination of this genotype. The endo- β -mannanase activity was lower in the *cry1a* mutant, while the α -galactosidase activity showed a tendency to increase, in relation to the MoneyMaker. In addition, some alterations in the levels of transcripts of genes induced by BL related to GA and ABA metabolism, which may have an effect on germination, were found between the *cry1a* mutant and MoneyMaker. In general, increasing the intensity of BL delays and negatively alters the rate of seed germination. The results shown in this study contribute to the increase in the understanding of the events induced by BL for the photoregulation of tomato seed germination.

Keywords: Hormones, hydrolases, light signaling, mutants, photoreceptor, seeds

1. INTRODUÇÃO

Os fatores ambientais, como água, temperatura e luz comumente controlam a germinação das sementes. Entretanto, o sinal luminoso serve de informação para que sementes com poucas reservas de endosperma, como as de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), evitem a germinação em condições desfavoráveis (Seo et al., 2009). A capacidade das sementes de integrar o sinal luminoso com as vias regulatórias de germinação é mediada por diferentes fotorreceptores vegetais que desempenham funções específicas ou cooperadas na percepção e transdução do sinal luminoso, capaz de promover ou inibir a germinação (Stawska e Oracz, 2019). Em *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), foram descritas cinco famílias de fotorreceptores, compostas por fitocromos que absorvem predominantemente nos comprimentos de onda do vermelho (R) e vermelho distante (FR); criptocromos, fototropinas e zeitlupes que absorvem na luz azul (LA) e ultravioleta-A (UV-A); e Locus de Resistência UV 8, um fotorreceptor de ultravioleta-B (UV-B) (Weller et al., 2001; Sullivan e Deng, 2003; Galvão e Fankhauser, 2015).

Desde a descoberta do envolvimento do R e FR na reversibilidade do processo de germinação (Borthwick et al., 1952), os fitocromos (phys) foram o grupo de fotorreceptores mais bem estudados (Seo et al., 2009). Em sementes de *Arabidopsis*, phyB e phyA medeiam de forma proeminente as respostas induzidas pelas luzes R e FR, respectivamente (Lee et al., 2012). Por sua vez, o tomateiro possui cinco genes de fitocromos (*PHYA*, *PHYB1*, *PHYB2*, *PHYE* e *PHYF*), sendo a fotoreversibilidade da germinação controlada pelo phyB2 (Appenroth et al., 2006). É consenso que os phys regulam a expressão de vários genes que atuam no metabolismo de giberelinas (GAs), e ácido abscísico (ABA) (Casal et al., 1998; Piskurewicz, 2009; Wilson et al., 2014), e por consequência, os níveis relativos destes hormônios nas sementes. As GAs e o ABA estão diretamente envolvidos na indução e inibição da germinação, respectivamente (Seo et al., 2006). Portanto, a sinalização da luz mediada por fotorreceptores pode ser determinante para o processo de germinação das sementes.

Entretanto, ao contrário do bem estabelecido controle da germinação pela luz R e FR, mediada pelos phys (Seo et al., 2009), o papel de outras regiões do espectro

e seus fotorreceptores é menos conhecido. Por exemplo, há muito se sabe que a luz azul (LA) induz respostas em sementes durante a germinação (Evenari et al., 1957). Isso envolve, provavelmente, os criptocromos (crys), fotorreceptores de UV-A / LA (315–500 nm), com notável participação do *cry1a* na percepção e transdução do sinal luminoso (Hoang et al., 2014). Entretanto, foram relatados resultados contrastantes sobre a função da LA e do *cry1* na germinação de diferentes espécies. Por exemplo, mutantes de *Arabidopsis* deficientes em *cry1* apresentam redução na taxa de germinação sob LA (Poppe et al., 1998; Lariguet et al., 2013), indicando que *cry1* é importante para germinação nestas condições. Curiosamente, nesta mesma espécie, a superexpressão do gene *Ta-CRY1a* eleva a sensibilidade das sementes ao ABA, o que pode afetar negativamente a germinação (Xu et al., 2009). Diferentemente, na cevada, a inibição da atividade de *cry1a* reprime a expressão do gene biossintético de ABA, *9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase* (*Hv-NCED1*), enquanto aumenta um gene catabólico de ABA (*Hv-ABA8'OH-1*), diminuindo os níveis deste hormônio nas sementes durante a germinação (Barrero et al., 2014), sugerindo que, por meio deste receptor, a LA altera o equilíbrio ABA/GA nas sementes. Assim, apesar das evidências mostrarem a associação da percepção da LA pelos crys à fotorregulação da germinação, os meios bioquímicos e moleculares envolvidos neste processo ainda são pouco compreendidos, principalmente em sementes de eudicotiledôneas (Stawska e Oracz, 2019).

Em tomateiro, os processos fotomorfogênicos desencadeado pela LA resultam em pronunciadas mudanças fisiológicas, como inibição do crescimento do hipocótilo e redução na taxa de germinação de sementes (Balarynová et al., 2018; Izzo et al., 2020). Até o momento, nesta espécie quatro genes de criptocromo foram descobertos, *CRY1* (*CRY1a* e *CRY1b*), *CRY2* e *CRY-DASH*, que medeiam e / ou controlam diferentes respostas induzidas por luz (Ninu et al., 1999; Perrota et al., 2001; Facela et al., 2006). Curiosamente, foi mostrado em plantas de tomateiro que o *cry1a* regula negativamente a expressão de genes envolvidos na síntese e sinalização de GAs, enquanto os genes de desativação de GAs são positivamente induzidos (Liu et al., 2018). Paralelamente, neste mesmo estudo, os autores observaram maior acúmulo tanto de GA quanto de ABA nas plantas mutantes *cry1a*. Além disso, o *cry1a* tem importante papel no desenvolvimento das sementes, pois controla negativamente

o número e peso de sementes por fruto de tomate (D'Amico-Damião et al., 2019; Fantini et al., 2020), demonstrando que este fotorreceptor pode estar envolvido nos processos de germinação desta importante espécie, considerada planta modelo para estudos fisiológicos que envolvem fotorreceptores de luz (Carvalho et al., 2011a; Zhang et al., 2019). Porém, se considerar a variação de respostas observadas no crescimento de plantas sob diferentes intensidades da LA (D'Amico-Damião et al., 2021), a fotorregulação da germinação pela LA dependente do *cry1a* pode ser influenciada pela quantidade e duração da exposição das sementes à luz.

Além disso, nas sementes, o endosperma é um tecido-chave no controle da germinação em resposta a sinais luminosos (Lee et al., 2012). Isso envolve provavelmente a participação de fotorreceptores de luz e ação de enzimas que hidrolisam estruturas de reserva das sementes (Nomaguchi et al., 1995; Sánchez e Miguel, 1997; Auge et al., 2009; Nakaune et al., 2012; Eckstein et al., 2016). No tomateiro, o endosperma é um tecido rico em galacto (gluco) mananos, e sua hidrólise ocorre pela ação conjunta das enzimas endo- β -mananase (EC 3.2.1.78), β -manosidase (EC 3.2.1.25) e α -galactosidase (EC 3.2.1.22), que tem um papel fisiológico no afrouxamento dos tecidos que circundam o embrião, e facilitam a germinação (Nonogaki et al., 2000; Mo e Bewley, 2003; Moles et al., 2019). Ademais, a atividade destas enzimas pode ser influenciada positivamente pelas GAs e negativamente pelo ABA (Mo e Bewley, 2003). Assim, é possível que haja uma complexa interação entre a LA, *cry1a* e hormônios na atividade de hidrolases durante a germinação. Surpreendentemente, pesquisas que abordem o papel da LA e do *cry1a* na atividade destas enzimas ainda não foi demonstrado.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da LA e suas interações com GAs e ABA na germinação e atividade de hidrolases em sementes de tomateiro, utilizando diferentes ferramentas, como; comprimentos de onda do azul por luz artificial em diferentes intensidades; mutantes, defectivos na etapa de biossíntese do ABA catalisada por NCED, na sinalização de GA mediada por DELLA, e na sinalização da LA controlada pelo fotorreceptor *cry1a*; transgênicos, com promotores de genes responsivos ao ABA e GA, bem como aplicação exógena destes hormônios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O tomateiro

O tomateiro, *Solanum lycopersicum* L. (anteriormente, *Lycopersicon esculentum* Mill.) pertence à família *Solanaceae*, conhecido pela sua elevada importância na alimentação humana, tem ocupado o segundo lugar no ranking mundial de consumo de hortaliças, ficando atrás apenas da batata (*Solanum tuberosum* L.) (Quinet et al., 2019). Esta cultura tem como origem as regiões andinas da América do Sul, compreendendo países como o Equador, Peru, Bolívia, Colômbia e Chile (Bai e Lindhout, 2007). O interesse pelo cultivo e melhoramento de cultivares em larga escala no mundo, juntamente com a busca por espécies selvagens, levaram à identificação e desenvolvimento de milhares de acessos de tomate, incluindo parentes selvagens, cultivares e variedades locais de *Solanum lycopersicum*, adaptados as mais diversas condições edafoclimáticas (Bai e Lindhout, 2007). Grande parte destes acessos, e muitos mutantes monogênicos de *Solanum lycopersicum*, são mantidos no “Tomato Genetics Resource Center” em Davis, Califórnia (TGRC, <http://tgrc.ucdavis.edu/>).

A maior importância econômica da cultura está na utilização de seus frutos, que pode ser consumido fresco ou transformado em outros produtos pelo processamento industrial (Li et al., 2018; Perea-Domínguez et al., 2018). O fruto do tomateiro é uma baga carnosa de formato e tamanho variado que apresenta coloração vermelha após a maturação fisiológica (Monforte et al., 2013), embora outros padrões de coloração podem ser encontrados em diferentes espécies e cultivares (Rodríguez et al., 2011; Zhou et al., 2018). As sementes do tomateiro encontram-se ligadas por conexões vasculares através do funículo no interior dos frutos, durante o desenvolvimento e maturação, e quando completamente formadas, essa ligação pode ser quebrada e as sementes se desprendem, podendo apresentar formato reniformes ou periformes, cujo embrião é envolto no endosperma (Nick et al., 2018). As sementes do tomateiro também são um subproduto do processamento industrial que tem se revelado como um reservatório de substâncias importantes à saúde como proteínas, carotenóides, polissacarídeos, fitoquímicos e vitaminas (Kumar et al., 2021).

Além da importância alimentícia e econômica de seus frutos carnosos, o tomateiro é considerado planta-modelo para estudos biológicos e agrônômicos da família *Solanaceae* (Kimura e Sinha, 2008; Azzi et al., 2015), em parte, devido ao ciclo biológico curto, sequência do genoma disponível e disponibilidade de diferentes espécies de tomate selvagem e mutantes monogênicos já caracterizados que têm sido utilizados na elucidação das mudanças fisiológicas, bioquímicas e moleculares do desenvolvimento das plantas, fornecendo melhor compreensão sobre processos fundamentais, desde a germinação de sementes até a reprodução (Carvalho et al., 2011a; Tomato Genome Consortium et al., 2012; Chaudhary et al., 2019).

2.2 Mutantes de tomateiro como modelo biológico para estudo de germinação

O uso de plantas com mutações que as tornam, por exemplo, deficientes em hormônios e em fotorreceptores, têm possibilitado evidenciar de forma direta o envolvimento da luz, hormônios e suas interações nos processos relacionados à germinação de sementes (Hilhorst e Karssen, 1992; Seo et al., 2009).

O mutante *procera* (*pro*) é defeitivo para a proteína DELLA que resulta em resposta constitutiva às GAs (Bassel et al., 2008). As proteínas DELLA reprimem a sinalização das GAs, e embora não possuam um domínio de ligação ao DNA, DELLA pode interagir com diversos fatores de transcrição e regular negativamente a expressão de genes importantes da via das GAs como *GA3ox2* (Yang et al., 2020a). Anteriormente foi proposto que o tomateiro apresenta apenas um gene *DELLA*, regulador negativo da transdução do sinal das GAs (Bassel et al., 2004). Assim, os efeitos da GAs na fisiologia do *pro*, mesmo em concentrações reduzidas, são os mesmos observados em plantas do tipo selvagem da espécie tratadas com GA exógena, propiciando aumento de altura, internódios alongados, folhas relativamente finas, lóbulo foliar reduzido e grande incidência de frutos partenocárpicos, em parte, pela falta de polinização devido ao alongamento do estilete (Carrera et al., 2012). Além disso, a produção de sementes é reduzida drasticamente no *pro* (Carrera et al., 2012). Entretanto, a mutação *pro* repercute positivamente na germinação de sementes por aumentar o potencial de crescimento do embrião, que resulta no aumento da velocidade de germinação (Bassel et al., 2008). Esse evento pode estar relacionado

ao controle negativo que DELLA exerce sobre o gene envolvido na expansão de células (*EXPANSIN2*) durante a germinação (Sánchez-Montesino et al., 2019). Além disso, o mutante *pro* exibe resposta adicional a aplicação de GA (Livne et al., 2015; Zhu et al., 2019), fazendo deste uma importante ferramenta na elucidação de eventos que envolvem este hormônio e sua via de transdução de sinal.

O mutante *notabilis* (*not*) é deficiente em ácido abscísico (ABA) devido à disfunção no gene *SINCE1* (Mulholland et al., 2003) que codifica para a enzima NCED (9- *cis* -epoxicarotenóide dioxigenase) envolvida na etapa da biossíntese de ABA (Burbidge et al., 1999). Este mutante tem como principais características, a germinação precoce e o aspecto desidratado (murcho) devido à alta taxa transpiratória e a baixa condutividade hidráulica de raiz (Thompson et al., 2004; Carvalho et al., 2011a).

O mutante com perda de função no fotorreceptor de luz azul, criptocromo 1a (*cry1a*), demonstra aumento na altura em comparação com o cultivar selvagem (Weller et al., 2001). No tomateiro, quatro genes do criptocromo foram descobertos e classificados como, *CRY1a*, *CRY1b*, *CRY2* e *CRY-DASH* (Perrotta et al., 2000; Weller et al., 2001; Facella et al., 2006). A função do *cry1a* nesta espécie é diversa, e inclui o controle da fotomorfogênese de plântulas, o acúmulo de antocianinas e o desenvolvimento da planta adulta (Perrotta et al., 2000). Por exemplo, alguns estudos indicam a importância do *cry1a* na mediação da relação fonte e dreno no desenvolvimento da planta, e nas respostas a múltiplos estímulos ambientais como o estresse por déficit hídrico, alta temperatura e deficiência nutricional no tomate (D'amico-Damião et al., 2019; D'amico-Damião et al., 2021; D'amico-Damião et al., 2022). Além disso, foi mostrado que o *cry1a* controla positivamente o número de sementes por fruto, enquanto o peso de frutos e sementes são influenciados negativamente (Liu et al., 2018; D'amico-Damião et al., 2019; Fantini et al., 2019).

2.3 Metabolismo e função do ABA e GA nas plantas

Essas duas classes de fito-hormônios regulam vários aspectos do desenvolvimento das plantas, em alguns casos uma relação inversa entre eles é observada. De fato, as GAs e o ABA são hormônios com efeitos antagônicos em

sementes, enquanto GA promove a germinação, o ABA induz a dormência (Liu e Hou, 2018). Estes processos são determinados pelo balanço ABA/GA (Tuan et al., 2018). De forma semelhante à germinação de sementes, esses hormônios desempenham papéis importantes na regulação do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, como o crescimento da raiz, desenvolvimento da folha, tempo de floração e respostas a estímulos ambientais, como a luz (Vishal e Kumar, 2018).

O ABA foi descoberto, nas décadas de 1950 e 1960, a partir de bioensaios de purificação e cristalização de uma substância “abscissin II” que causava abscisão (queda) do fruto do algodoeiro, juntamente com outros estudos em diferentes espécies e regiões que aconteciam simultaneamente na época e que ajudaram na descoberta deste hormônio (Srivastava, 2002a; Nambara e Marion-Poll, 2005). A síntese do ABA ocorre em raízes, caules, folhas maduras, frutos e sementes em desenvolvimento, e sua via de biossíntese envolve o precursor zeaxantina, que é sintetizado pela via do β -caroteno (Vishal e Kumar, 2018). As enzimas epóxido de zeaxantina (ZEP) e 9-*cis*-epoxicarotenóide (NCED) realizam a conversão de zeaxantina à xantoxina, no plastídio. A última etapa da síntese do ABA acontece no citosol, marcada pela transformação da xantoxina em um composto intermediário, o ABA-aldeído, que finalmente será oxidado à ABA (Cheng et al., 2002). A percepção e sinalização do ABA envolve uma complexa interação com seus receptores PYR/PYL/RCAR (“PYRABACTIN RESISTANCE”, “PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT”, “ABA RECEPTOR”) que desativam as proteínas inibidoras de sua sinalização, fosfatases 2Cs (PP2C), liberando um regulador mestre da sinalização do ABA, as proteínas cinases (SnRK2s) (Wang et al., 2020). Os níveis de ABA são controlados por duas formas: conjugação à glicose (ABA-GE) tornando-o inativo, ou desativação por meio de hidroxilações que formam dois compostos, o ácido faseico (PA) e ácido di-hidrofaseico (DPA) (Yan e Chen, 2017; Vishal e Kumar, 2018 Stacciarini-Seraphin e Freschi, 2019).

O ABA desempenha diversas funções nas plantas, e conhecidamente, seu efeito, em geral, inibe o crescimento e metabolismo dos vegetais, mas respostas divergentes podem ser encontradas, dependendo da espécie, tecido e estágio de desenvolvimento das plantas (Chinnusamy et al., 2008; Chen et al., 2020a). Em condições adversas ao desenvolvimento normal das plantas causadas por fatores

bióticos ou abióticos, o ABA age para aumentar a tolerância das plantas induzindo síntese de proteínas e osmólitos compatíveis, conforme observado em plantas predispostas à salinidade do solo (Rajasheker et al, 2019) e déficit hídrico (Awan et al., 2021). Além disso, o ABA é importante para o desenvolvimento e maturação das sementes, permitindo que estas concluam o programa de desenvolvimento e acumulem reservas nutricionais, o que previne a germinação precoce, e induz a síntese de proteínas que protegem as sementes contra os danos provocados pela dessecação ou por espécies reativas de oxigênio formadas pelo próprio metabolismo respiratório das sementes (Srivastava, 2002a).

As GAs foram descobertas a partir de distúrbios no crescimento de plantas de arroz, causado por uma infecção fúngica que tinha como agente etiológico *Gibberella fujikuroi*, causador de uma doença que resultava no crescimento desordenado das plantas, que ficavam debilitadas, tombavam e dificilmente completavam seu ciclo reprodutivo (Srivastava, 2002b; Thomas et al., 2005; Gupta e Chakrabarty, 2013; Hedden e Sponsel, 2015). O termo giberelina foi cunhado na década de 1930, após a purificação da substância produzida pelo fungo que ao ser aplicado em plantas sadias apresentavam distúrbios fisiológicos no crescimento, ou seja, efeitos similares aos de plantas acometidas pelo ataque de *Gibberella fujikuroi* (Yabuta e Sumiki, 1938). Atualmente, centenas de GAs foram descritas em diferentes organismos biológicos como plantas e fungos, mas apenas GA₁, GA₃, GA₄ e GA₇ foram consideradas biologicamente ativas (Yamaguchi e Kamiya, 2000; Yamaguchi, 2008). A síntese de GA ocorre em ápices caulinares, frutos e sementes em desenvolvimento, raízes e folhas jovens, e também em sementes durante a germinação, e envolve três etapas, separadas espacialmente e resumidas em: síntese do *ent*-caureno nos plastídios, oxidação do *ent*-caureno ao precursor GA₁₂-aldeído no retículo endoplasmático e, conversão de GA₁₂-aldeído às diversas giberelinas por duas vias distintas, hidroxilação que leva a formação de GA₂₀ e GA₁, e não hidroxilação que dão origem a GA₉ e GA₄ no citosol e resultam nas GAs bioativas por meio de reações catalisadas pelas enzimas GA₂₀-oxidase e GA₃-oxidase (Yamaguchi, 2008; Gupta e Chakrabarty, 2013; Hedden, 2020). A percepção e sinalização das GAs envolvem a ligação com seu receptor, INSENSITIVE DWARF1 (GID1), e subsequentemente sua interação com as proteínas DELLA, repressoras da sinalização de GA (Vishal e Kumar, 2018;

Hernández-García et al., 2021). Esse complexo de ligações leva a ubiquitinação e degradação das proteínas DELLA via proteossoma 26S, liberando os genes de sinalização de GA que estavam reprimidos (Hernández-García et al., 2021). Por outro lado, a desativação das GAs bioativas é regulada por uma família pequena de genes que codificam as enzimas GA₂-oxidases (Hedden e Thomas, 2012; Hedden, 2020). As GAs bioativas controlam e estimulam vários processos biológicos nas plantas desde à germinação, alongamento do caule, morfologia de folhas, flores e frutos (Hedden e Thomas, 2012).

As mudanças sazonais de parâmetros ambientais como temperatura, umidade do solo e principalmente a luminosidade alteram o estado de dormência das sementes através da indução ou repressão de genes relacionados com às vias do metabolismo e sinalização de GAs e ABA (Yan e Chen, 2020). Em tomateiro, a germinação é frequentemente induzida quando os genes associados a biossíntese de GAs (*SIGA3ox2*, *SIGA20ox1* e *SIGA20ox2*) são regulados positivamente, e os de ABA (*SINCED1* e *SINCED2*) são suprimidos (Nakaune et al., 2012; Yang et al., 2015).

2.4 Regulação da germinação por luz e hormônios

Embora pareça ser um evento fisiológico bastante simples, devido à simplicidade morfológica do embrião, os mecanismos moleculares e bioquímicos que controlam a germinação de sementes são bastante complexos e podem depender de uma série de fatores endógenos tais como hormônios, bem como exógenos, como água, temperatura e luminosidade (Seo et al., 2009). Como um fator exógeno, a temperatura controla, por exemplo, a absorção de água pelas sementes e a atividade de importantes enzimas envolvidas na degradação da parede celular (Moral et al., 2015; Xia et al., 2016). Além disso, embora possa estar associada à temperatura, a luz pode desencadear mecanismos específicos de sinalização de resposta por meio de fotorreceptores, os quais tem sido mostrado estar envolvidos em importantes eventos moleculares e bioquímicos durante a germinação, como a expressão de genes associados à biossíntese de hormônios (Oh et al., 2006; Wilson et al., 2014) e atividade de enzimas importantes para a germinação (Eckstein et al., 2016).

As plantas que respondem à luz para germinação são classificadas em fotoblásticas positivas (necessitam do estímulo da luz para germinar), fotoblásticas negativas (requerem ausência de luz para germinar) e fotoblásticas neutra (independem da condição de luz para germinar) (Towers et al., 2022). Os hormônios vegetais também exercem um forte controle da germinação de sementes (Miransari; Smith, 2014). De fato, tem sido mostrado que praticamente todas as classes hormonais; auxinas (Vogel e Macedo, 2011; Li et al., 2016b), citocininas (Wang et al., 2011), giberelinas (Zhong et al., 2015), ácido abscísico (Li et al., 2016a), etileno (Clemente et al., 2015), brassinosteróides (Hu e Yu, 2014), ácido jasmônico (Kepczynski e Bialecka, 1997) e ácido salicílico (Gu et al., 2016) controlam a germinação. Além disso, uma complexa interação entre o sinal luminoso e síntese de hormônios tem sido revelada em vários estudos (Seo et al., 2009; Barrero et al., 2014; Stawska e Oracz, 2019).

A interação entre sinais de luz e hormônios vegetais, principalmente GA e ABA pode induzir as sementes a germinarem, ou agir para que estas mantenham-se dormentes (Joseph et al., 2014; Yang et al., 2020b). Isso ocorre por que a luz pode alterar os níveis endógenos de GAs e ABA nas sementes durante a germinação (Seo et al., 2009; Yang et al., 2020b). O balanço ABA/GA determina a germinação ou a manutenção da dormência nas sementes da maioria das espécies de plantas (Tuan et al., 2018). Neste contexto, foi mostrado que a luz vermelha desencadeia a germinação em sementes de *Arabidopsis* (Seo et al., 2006) e arroz (Kim et al., 2009) ao elevar os níveis de GA, diminuindo a razão ABA/GA. Além disso, a aplicação de GA exógeno às sementes fotoblásticas positivas reduz quase por completo a necessidade de luz vermelha para germinação (Dissanayake et al., 2010).

As alterações dos níveis de fito-hormônios pelos comprimentos de onda do vermelho (650 a 680 nm) e vermelho-extremo (710 a 740 nm) ocorrem via fitocromo, fotorreceptores vegetais mais estudados e importantes para a promoção da germinação sob luz vermelha e vermelha distante (Quail, 2002; Seo et al., 2009). Em *Arabidopsis*, foram encontrados cinco tipos de fitocromos (phyA a phyE), e destes phyA, phyB, phyD e phyE promovem a germinação, enquanto phyC atua de forma antagônica (Lee et al., 2012; Arana et al., 2014). Estas respostas acontecem porque a luz vermelha converte o fitocromo para forma ativa e induz a germinação, enquanto

a luz vermelha distante inativa os fitocromos e inibe a germinação (Seo et al., 2006). Os fitocromos ativos atuam reprimindo a transcrição de genes de biossíntese e sinalização de ABA, favorecendo a germinação (Seo et al., 2009; Gu et al., 2019).

Embora haja um importante avanço no entendimento do controle dos fitocromos sobre os mecanismos da germinação de sementes, certamente um complexo sistema fotomorfogenético ocorre durante essa resposta devido, por exemplo, à presença de diferentes fotorreceptores vegetais controlados por diferentes comprimentos de onda da luz (Carvalho et al., 2011a). Em outras palavras, se a percepção da luz pelas plantas envolve diferentes fotorreceptores no controle do crescimento durante todo ciclo de vida, então não é surpresa conjecturar que a germinação de sementes também é modulada por outros fotorreceptores além dos fitocromos. Por exemplo, os criptocromos, os quais são proteínas que contêm uma flavina e uma pterina como cromóforos para a luz azul (Wang et al., 2015; Mishra e Khurana, 2017; Yang et al., 2017), são fortes candidatos a moduladores do processo de germinação. De fato, o componente azul do espectro luminoso (425 a 490 nm) também é importante para o processo de germinação, porém seu mecanismo de ação ainda não foi bem esclarecido, pois pouco se sabe sobre os genes específicos envolvidos na via de sinalização da LA, bem como os responsáveis pela regulação da germinação, principalmente em sementes de eudicotiledôneas (Stawska e Oracz, 2019).

Além disso, tem sido observado que as respostas desencadeadas pela LA podem variar entre diferentes espécies, e depender do estado de dormência das sementes (Tabela 1). Por exemplo, a LA é capaz de inibir a germinação da grama selvagem (*Brachypodium distachyon*) (Barrero et al., 2012) e azevém (*Lolium rigidum*) (Goggin et al., 2008), enquanto induz da erva vegetal (*Cleome gynandra*) (Nemahunguni et al., 2020) e Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) (Simlat et al., 2016). Em *Arabidopsis*, a LA induz a quebra de dormência dependente de phyB e HY5, através do controle da transcrição de genes-chave relacionados à luz, GA e ABA (Stawska e Oracz, 2019).

Tabela 1. Resumo do efeito da luz azul sobre a germinação em diferentes espécies.

Espécie de planta	Tratamento	Efeito na germinação	Referências
Trevo	~ 344 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Reduz a taxa de germinação final.	Costa et al. (2016)
Stevia	~ 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Aumenta a taxa e a velocidade de germinação.	Simlat et al. (2016)
Mostarda	40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fotoperíodo 16/8 h)	Reduz a taxa de germinação final.	Nawaz et al. (2018)
Tomateiro	10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Reduz a velocidade e a taxa de germinação final.	Piterková et al. (2012)
	10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Reduz a velocidade e a taxa de germinação final.	Balarynová et al. (2018)
	190 $\pm$ 5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Reduz a taxa de germinação final.	Izzo et al. (2020)
Braquipódio	38 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Reduz a taxa de germinação final.	Barrero et al. (2012)
Cleome	0,2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Aumenta a taxa e a velocidade de germinação.	Nemahunguni et al. (2020)
Cevada	57,5 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$	Reduz a taxa de germinação final.	Hoang et al. (2014)
	26, 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Promove dormência em grãos de cevada recém-colhidos.	Gubler et al. (2008)
Alface	25 m μ (3 minutos)	Reduz a taxa de germinação final.	Evenari et al. (1957)
Trigo	26, 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Inibe a germinação em grãos dormentes	Jacobsen et al. (2013)
Arabidopsis	38 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Contínua)	Aumenta a taxa e a velocidade de germinação.	Lariguet et al. (2013)
	20 a 180 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Induz a germinação de sementes dormentes.	Stawska e Oracz. (2019)

A percepção inicial do estímulo externo para o controle da germinação pela LA pode depender dos criptocromos (Hofmann, 2014). Ao ser irradiado com LA, os criptocromos são fotoexcitados e passam do estado inativo à ativo, que pode acarretar alterações biofísicas e bioquímicas que induzem a expressão de genes responsáveis pelas respostas fisiológicas na planta (Wang et al., 2015; Mishra e Khurana, 2017). Por exemplo, após ser ativado, o criptocromo 1 (cry1) presente no núcleo pode se ligar a proteína “SUPRESS PHYTOCHROME” (SPA1) que inibe sua interação com

“CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1” (COP1) e a formação do complexo SPA1-COP1 responsável pela regulação negativa dos fatores de transcrição (FT) “ELONGATED HIPOCÓTIL 5” (HY5), “HY5–HOMOLOG” (HYH), “LONG AFTER FAR–RED LIGHT 1” (LAF1) e “LONG HYPOCOTYL IN FAR–RED 1” (HFR1) que são intermediários do cry1 na (via de sinalização) modulação da expressão gênica relacionada à LA (Mishra e Khurana, 2017; Wang et al., 2018). Assim, considerando as evidências moleculares mais recentes, Barrero et al. (2014) usaram RNA de interferência (RNAi) para silenciar genes codificadores para criptocromos (CRY1) de cevada (*Hordeum vulgare*). Os resultados mostraram que, sob LA, as plantas silenciadas apresentaram maior porcentagem de germinação dos grãos comparadas ao controle. Curiosamente, os grãos das plantas modificadas também reduziram os níveis de ABA, o mais importante indutor de dormência em sementes, sugerindo assim que a dormência imposta pelo ABA em grãos de cevada é modulada pelos criptocromos. De fato, Gubler et al. (2008) haviam mostrado que a inibição da germinação pela LA coincidiu com a indução do gene *9-cis-epoxicarotenoide dioxigenase* (NCED1), que codifica para a enzima NCED, a qual é parte da via biossintética de ABA. De modo surpreendente, esses autores verificaram que a expressão de genes *GA3ox*, que codificam para as enzimas chaves (giberelina-3 oxidase) da via de biossíntese das GAs, foi aumentada. Além disso, a superexpressão de CRY1 de trigo em *Arabidopsis* aumentou a sensibilidade ao ABA exógeno durante a germinação de sementes (Barrero et al., 2014). Ainda, o efeito da inibição da germinação pela LA em sementes de arroz e cevada coincidem com a repressão de genes responsáveis pela biossíntese de GAs (Gubler et al., 2008; Hirose et al., 2012; Hoang et al., 2014). Em contraste, o cry1 parece afetar positivamente a germinação em *Arabidopsis*, pois a perda de função no mutante *cry1* apresenta redução na taxa de germinação sob LA (Pope et al., 1998; Lariguet et al., 2013). Em tomateiro, a LA reprime a germinação de sementes (Fellner et al., 2002; Balarynová et al., 2018). Entretanto, com exceção do efeito em sementes de cevada e *arabidopsis*, inexistem estudos que expliquem como a germinação de sementes de tomateiro é afetada pela luz azul por meio de criptocromos.

De fato, no que diz respeito ao tomateiro, é escassa a exploração dos mecanismos de controle da germinação de sementes por meio da sinalização da LA.

Um trabalho pioneiro em tomateiro mostrou que a LA inibiu a germinação dessa espécie (Aneli, 1940). Seis décadas depois, durante a caracterização do mutante *7B-1* de tomateiro, esse genótipo apresentou aumentada taxa de germinação sob LA e na presença de ABA, quando comparado ao controle (Fellner e Sawhney, 2002). Além disso, os níveis de ABA no mutante *7B-1* foram reduzidos durante a germinação sob LA (Piterkova et al., 2012). Entretanto, esses eventos são ainda bastante complexos pois, somente sob dias longos, Fellner e Sawhney (2002) haviam mostrado que o mutante foi mais sensível ao ABA do que o controle para inibir a germinação de sementes. Recentemente, Omidvar e Fellner (2015) verificaram que, embora a mutação *7B-1* altere a sinalização à LA, os criptocromos 1 e 2 (CRY1 e CRY2) e fototropinas 1 e 2 (PHOT1 e PHOT2) não foram alterados no genótipo mutante por meio de análise da transcrição gênica, indicando, de fato, que a sinalização da LA durante a germinação em tomateiro envolve um intrincado mecanismo fotomorfogenético, mas as informações não passam dessas abordagens acima.

Contudo, embora haja evidências dos mecanismos envolvidos na sinalização da LA durante a germinação de sementes, esse é um evento muito intrincado, principalmente se considerado os efeitos indutores e inibitórios desse comprimento de onda. Somada a essa complexidade, durante a germinação os criptocromos podem depender da qualidade e quantidade da luz percebida. Visto que a fotoativação dos criptocromos ocorre com redução dos cromóforos durante percepção da LA, e tem sido mostrado que esse evento pode ocorrer por meio de comprimentos de onda mais curtos, tais como o UV-A (~320-400 nm), ou mais longo, tais como o azul (~400-490 nm) (Wang et al., 2015; Mishra e Khurana, 2017). Além disso, o uso de diferentes irradiâncias, considerando principalmente os comprimentos de onda do azul, podem ser encontradas em diferentes espécies e, em uma ampla faixa de intensidades (0,2 a 344 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a LA pode promover ou inibir a germinação (Tabela 1).

2.5 Enzimas hidrolíticas de reserva em sementes

As sementes são constituídas principalmente por reservas de proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais que são utilizados como nutrientes pelo embrião durante a germinação (Tan-Wilson e Wilson, 2012; Aguirre et al., 2018; Zhao et al.,

2018). A quantidade e o tipo de reserva acumulada nas sementes podem variar, dependendo da espécie; por exemplo, o milho apresenta maiores quantidades de carboidratos, enquanto no feijão há predominância de proteínas, já as sementes de algodão e soja são ricas em proteínas e lipídeos (Nakagawa et al., 2018; Su et al., 2018; Vogelsang-O'Dwyer et al., 2020; Chen et al., 2020b; Attia et al., 2021). Estas reservas são disponibilizadas para o embrião por ação das enzimas hidrolases, proteases e lipases ativadas durante a germinação (Oracz e Stawska, 2016; Guzmán-Ortiz et al., 2019; Kaur et al., 2021).

Os carboidratos que podem influenciar na germinação de sementes foram classificados em três grupos: mananos, xiloglucanos e galactanos (Buckeridge et al., 2000; Nonogaki, 2019). Devido sua estrutura química, os mananos podem ser divididos em manano puro, glucomanano e galactomanano, amplamente encontrados no endosperma de sementes monocotiledôneas e dicotiledôneas, que além de serem utilizados como compostos de reserva podem estar associados à restrição mecânica para protusão da radícula durante o processo de germinação (Buckeridge et al., 2000). A hidrólise completa dos galactomananos por enzimas como endo- β -mananase (EC 3.2.1.78), β -manosidase (EC 3.2.1.25) e α -galactosidase (EC 3.2.1.22) demonstraram ser importantes no enfraquecimento do endosperma durante a germinação (Still e Bradford, 1997; Mo e Bewley, 2003; Lara-Núñez et al., 2009), e mudanças nas propriedades do endosperma podem afetar de forma significativa o tempo de emergência da radícula (Nonogaki, 2014). Portanto, estudos que avaliam tais enzimas podem contribuir na elucidação da germinação de sementes.

As sementes de tomateiro são consideradas como modelo para analisar os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares da germinação de sementes (Hilhorst et al., 1998). O endosperma da parede celular das sementes do tomateiro é constituído principalmente por manose, glicose e galactose unidos em seus polímeros (galactomanano ou galactoglucomanano) que dificulta a expansão do embrião durante a embebição da semente devido à rigidez que estes oferecem (Groot et al., 1988; Dahal et al., 1997).

A endo- β -mananase é a enzima que realiza a quebra das ligações internas dos polímeros de manano, e sua atividade foi detectada tanto no endosperma lateral quanto micropilar, antes e depois da conclusão da germinação de sementes de

tomateiro (Groot et al., 1988; Still e Bradford, 1997; Nonogaki et al., 1998; Nonogaki et al., 2000; Moles et al., 2019). Assim, é proposto que esta enzima realize o afrouxamento da parede celular e, a partir disto, facilite o rompimento das barreiras físicas pela radícula para permitir a germinação (Hilhorst et al., 1998; Mo e Bewley, 2003). Funções semelhantes ao observado em sementes de tomateiro foram atribuídas para esta enzima em outras espécies como *arabidopsis* (Iglesias-Fernández et al., 2011), arroz (Ren et al., 2008), mostarda (Carrillo-Barral et al., 2018) e cevada (Iglesias-Fernández et al., 2020). A atividade da endo- β -mananase pode ser testada por viscosidade, espectrofotometria e difusão em gel (Downie et al., 1994), sendo que esta última é amplamente utilizada, pela praticidade de aplicação do teste, e sensibilidade de detecção da enzima (Still; Bradford, 1997; Mo; Bewley, 2003).

A atividade da β -manosidase também está associada ao mecanismo de hidrólise do galactomanano presente em sementes de tomateiro. A ação da endo- β -mananase resulta na liberação de manobiose e mannotriose que podem ser hidrolisados a manose pela β -manosidase (Wang et al., 2005), e assim como visto para endo- β -mananase, há aumento de sua atividade durante e após à germinação (Mo e Bewley, 2002; Mo e Bewley, 2003).

Já a enzima α -galactosidase age nas ramificações laterais de galactose da cadeia principal do manano (Bassel et al., 2001; Feurtado et al., 2001; Ren et al., 2007). Em ação sinérgica, endo- β -mananase, β -manosidase e α -galactosidase realizam a hidrólise do galactomanano em mannobiose, mannotriose e galactose (Reid e Meier, 1973; Feurtado et al., 2001). Assim, a atividade da α -galactosidase também é importante durante a germinação. Por exemplo, Blöchl et al. (2007) observaram diminuição na taxa de germinação de 25 % em relação ao controle, nas sementes de ervilha embebidas com inibidor da α -galactosidase (1-deoxygalactonojirimycin, DGJ). Os autores ainda observaram redução nos níveis de galactose e sacarose, fonte de energia para o crescimento do embrião, ou seja, a restrição da α -galactosidase pode afetar o suprimento de nutrição ao embrião e, por consequência, a germinação. Além disso, em determinadas condições, a ação da α -galactosidase pode ser essencial ao facilitar o acesso da endo- β -mananase à cadeia principal do galactomanano (Lisboa et al., 2006).

2.6 Interação entre luz e hormônios na atividade de enzimas hidrolíticas associadas a germinação

O afrouxamento da parede celular está sujeito à regulação luminosa e hormonal. As hidrolases (endo- β -mananase, β -manosidase e α -galactosidase) localizadas no endosperma das sementes podem ser induzidas por GAs, enquanto o ácido abscísico atua inibindo-as (Nonogaki et al., 1992; Feurtado et al., 2001; Mo e Bewley, 2003). Nomaguchi et al. (1995) observaram que a atividade da endo- β -mananase foi aumentada sob luz vermelha e diminuída pela luz vermelha distante, e estes resultados foram correlacionados com aumento na taxa de germinação final. Além disso, a atividade da α -galactosidase foi aumentada nos cotilédones de alface, estimulada pela luz vermelha e ácido giberélico durante a germinação (Leung e Bewley, 1981), indicando a presença de uma complexa interação entre sinal luminoso e hormônios na atividade das hidrolases de reserva. De modo não surpreendente o, os fitocromos medeiam a sinalização de luz vermelha, que promove o aumento na atividade de hidrolases (Sanchez e Miguel, 1997; Arana et al., 2006).

Similarmente à luz vermelha, as análises de germinação realizadas em espécies como cevada, arroz e *Arabidopsis* indicam que a LA e o fotorreceptor *cry1* pode controlar a ativação de genes responsáveis pela biossíntese de GA e ABA (Gubler et al., 2008; Jacobsen et al., 2013; Hoang et al., 2014) alterando os níveis destes hormônios nas sementes (Barreiro et al., 2014). Em consequência da alteração no balanço ABA/GA, os criptocromos podem ter um papel na atividade das hidrolases em sementes. Além disso, Dong et al. (2021) mostraram que a LA pode induzir a atividade de α -amilase e β -amilase para a mobilização de amido nas folhas de tomateiro, mas este efeito foi significativamente reduzido nas folhas do mutante *cry1a*, indicando que este receptor influencia o acúmulo de amido foliar regulando a atividade enzimática.

Coletivamente, estes estudos demonstram que o sinal luminoso, os hormônios e as enzimas de hidrólise do endosperma podem interagir para regular a germinação de sementes. Assim, considerando o fato de que GA e ABA influenciam tanto a germinação quanto a atividade de hidrolases em sementes (Nakaune et al., 2012), é possível que a sinalização da LA mediada pelo *cry1a* interfira no balanço ABA/GA, e diminua a atividade das hidrolases, suprimindo, desse modo, a germinação

em sementes de tomateiro. Pesquisas nessa área são necessárias para o aumento da compreensão dos mecanismos controlados pela LA na indução ou inibição da germinação de sementes, e determinar se a interferência da LA ocorre entre as vias de sinalização dependente de fotorreceptores e hormônios.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cultivares e produção de sementes

Para este estudo, foram utilizadas sementes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.). Os cultivares Moneymaker (“Wild Type” ou WT) e Micro-Tom (MT; usado como WT) foram usados como controle para os genótipos de grande e pequeno porte, respectivamente. As sementes do mutante fotomorfogênico com perda na função no *cry1a* (Weller et al., 2001), foram obtidas do “Tomato Genetics Resource Center” (TGCR; Davis – Califórnia). Os mutantes *procera* (*pro*) e *notabilis* (*not*), ligados às vias de sinalização de giberelinas (GAs) e síntese de ácido abscísico (ABA), respectivamente, bem como as linhagens transgênicas MT-*pGA2Ox::GUS* e MT-*pRD29B::GUS* que abrigam os promotores responsivos as GAs (*pGA2ox*) e ao ABA (*pRD29B*) fusionados ao gene repórter *uidA* (β -glucuronidase, GUS) foram obtidos da coleção de mutantes de tomateiro mantida na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), Brasil (Carvalho et al., 2011), gentilmente cedidos pelo prof. Dr. Lazaro Eustáquio Pereira Peres.

Para produzir as sementes utilizadas nos ensaios de germinação, todos os genótipos (tipo selvagem, mutantes e transgênicos) foram cultivados na mesma época, obtendo lotes homogêneos de sementes. A produção de mudas foi realizada por meio de semeadura em bandejas contendo uma mistura 1:1 (v/v) de um substrato comercial (BioPlant, Brasil) e vermiculita expandida e, após germinarem, foram mantidas em câmara de crescimento com iluminação artificial e Fotoperíodo de 12h. Quinze dias após a semeadura, as plântulas foram transferidas para os vasos definitivos de cultivo.

WT e o mutante *cry1a* foram cultivados em vasos de 10 L contendo um Latossolo Vermelho eutroférico. Entretanto, antes do cultivo, foi realizado a amostragem do solo, seguida de análise química e física, conforme metodologia proposta por Raij et al. (2001), obtendo os seguintes resultados: pH (CaCl_2): 5,5; matéria orgânica: 22 g dm^{-3} ; Argila: 23%; Silte: 13%; Areia: 64%; P (resina): 24 mg dm^{-3} ; P (Mehlich): 19 mg dm^{-3} ; K: $9,7 \text{ mmolc dm}^{-3}$; Ca: 24 mmolc dm^{-3} ; Mg: 12 mmolc dm^{-3} ; S: 8 mg dm^{-3} ; Al: 0 mmolc dm^{-3} ; H+Al: 19 mmolc dm^{-3} ; Soma de base : 45

mmolc dm⁻³; CTC: 64,5 mmolc dm⁻³ e Saturação por bases: 71%. Em cada vaso foram aplicados 4 g de P₂O₅, 0,3 g N e 1,5 g K₂O e 0,018 g B. Além disso, foram aplicadas adubações de manutenção com NPK, de acordo com as recomendações para o cultivo de tomate propostas por Raij et al. (1996). Após a emissão dos botões florais, foram pulverizados 6 g L⁻¹ de CaCl₂ via foliar, a cada duas semanas. Os genótipos, MT, *pro* e *not*, MT-*pGA2Ox::GUS* e MT-*pRD29B::GUS* foram cultivados em vasos de 0,5 L preenchidos com uma mistura de vermiculita e substrato comercial (BioPlant Brasil) (1: 1 v / v), fertilizado com 2 g do fertilizante osmocote de liberação controlada (FORTH Cote, Brasil). O cultivo de todos os genótipos foi realizado em casa de vegetação sob luz e temperatura natural, com temperatura média durante o ciclo de 24 °C (DP ± 2,85°C) e umidade relativa de 51 % (DP ± 5,84%) com fotoperíodo de 12 h e densidade de fluxo de fótons fotossintético (450 a 700 nm) de ~ 570 μmol m⁻² s⁻¹ ao meio-dia. Os frutos foram colhidos no estágio 6 (vermelho maduro) (Bewley et al., 2000). As sementes, extraídas dos frutos maduros com mucilagem, foram cobertas com leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) liofilizadas e deixadas em repouso por 48 horas para que ocorra fermentação, necessária para a retirada da mucilagem que fica em volta da semente, e posteriormente lavadas em água abundantemente e secas lentamente em papel filtro Whatman (n°1). As sementes foram utilizadas entre duas e quatro semanas após serem colhidas.

3.2 Condições de germinação

As sementes foram esterilizadas em hipoclorito de sódio a 5% por três minutos, e então lavadas com água deionizada. Amostras de 40 sementes foram semeadas sobre duas folhas de papel de filtro Whatman N°. 1 umedecidas com 5 mL de água deionizada, em placas de Petri (90 x 15 mm). Para os experimentos com aplicação exógena de hormônios, as sementes foram colocadas para germinar sobre duas folhas de papel de filtro Whatman N°. 1 umedecidas com 5 mL de soluções de ABA (0,25 μmol) (Sigma) ou GA₃ (5 μmol) (Sigma), em placas de Petri (90 x 15 mm). As placas foram embrulhadas com papel alumínio para germinação no escuro, ou expostas à luz azul contínua nas seguintes intensidades: 1, 5, 10, 15 e 25 μmol m⁻² s⁻¹.

¹, com diodos emissores de luz (LEDs) azul monocromática com pico em 456 nm, interligados a dimerizadores para ajustar as intensidades da luz, e acoplados à uma câmara de germinação a 25°C. Cada intensidade foi ajustada por meio de dimerizadores, com auxílio de um espectroradiômetro portátil (modelo SN-SP-144; Photon Systems Instruments, Drásov, República Checa).

O número de sementes germinadas foi contabilizado a cada 12 h, por cinco dias, sendo considerada germinada a semente com a presença da radícula visível (aproximadamente 2 mm). As sementes germinadas foram contabilizadas sob luz verde de segurança a $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Barrero et al., 2012). Com o auxílio do software R versão 4.0.2 (R Development Core Team, 2015), foram realizados os cálculos da porcentagem de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para que ocorresse 50% de germinação (T50). O pacote 'SeedCalc' foi acessado para os cálculos usando as funções 'GermCalc' e "Nseeds" (Silva et al., 2019).

3.3 Extração e atividade de enzimas hidrolíticas

Para avaliar a atividade das enzimas endo- β -mananase (EC 3.2.1.78), β -manosidase (EC 3.2.1.25) e α -galactosidase (EC 3.2.1.22), seguiu-se metodologias propostas anteriormente (Still et al., 1997; Mo e Bewley, 2003; Lara-Nuñez et al., 2009). Resumidamente, amostras de 20 sementes de cada repetição coletadas em dois momentos: 36 e 72 h após a semeadura, e então foram maceradas em nitrogênio líquido, e adicionado 500 μl de tampão HEPES-KOH 0,1 M pH 8. O material obtido foi centrifugado a 11000 g por 15 minutos a 4° C, e o sobrenadante coletado utilizado para avaliação da atividade da endo- β -mananase e α -galactosidase. O pellet foi ressuspenso em 300 μl de tampão HEPES-KOH 0,1 M pH 8 com 0,5 M de NaCl, e o extrato utilizado para avaliar a atividade da β -manosidase.

A atividade da endo- β -mananase foi avaliada por difusão em gel, seguindo metodologia proposta por Still et al. (1997), com algumas modificações. O substrato locust bean gum (Sigma), 0.1% (w/v) foi dissolvido em tampão McIlvaine pH 5,0 (0,1 M ácido cítrico, 0,2 M Na_2HPO_3), adicionado a este, 0,8% (w/v) de agarose (sigma) em temperatura de 150 °C, até borbulhar. Após breve resfriamento, 30 mL do gel foi aplicado em placas de petri descartáveis, deixadas sob 16 °C para solidificação por 3

horas. Foi construído poços de 2 mm de diâmetro, e o gel retirado por sucção com pipeta. A estes poços foram adicionados 4 µL do extrato de cada amostra, e as placas foram incubadas no escuro a 25° C por 24 h. A revelação foi realizada com 0,5% (w/v) de Congo red (Sigma), seguido de tampão McIlvaine pH 7,0 (0,1 M ácido cítrico, 0,2 M Na₂HPO₃). O diâmetro das áreas hidrolisadas pela enzima no gel foi medido em duas direções (Figuras 1, 2, 3 e 4 do Apêndice). A atividade da enzima foi expressa com base em uma curva (1 a 75 pmol) obtida com endo-β-mananase de *Aspergillus niger* (Megazyme).

A atividade da β-manosidase foi avaliada pela combinação de 60 µL de extrato com 90 µL do substrato enzimático p-nitrophenyl b-Dmannopyranoside a 2 mM (Sigma) em tampão McIlvaine pH 5 (0,1 M ácido cítrico, 0,2 M Na₂HPO₃) por 2 h a 37 °C. A reação foi cessada pela adição de 75 uL de carbonato de sódio a 0,2 M. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 405 nm. O coeficiente de extinção para p-nitrophenol, 18,400 foi usado no cálculo (Reid e Meier 1973), e a atividade expressa em pmol min⁻¹ mg proteína⁻¹ (Mo e Bewley, 2003).

A atividade da α-galactosidase foi realizada com base nos métodos de Lara-Núñez et al. (2009), com modificações. A mistura de reação conteve 75 uL do tampão McIlvaine pH 4,5 (0,1 M ácido cítrico, 0,2 M Na₂HPO₃), 15 µL de substrato p-nitrophenil-a-D-galactopyranoside (sigma) a 10 mM dissolvidos em tampão McIlvaine pH 5,0 (0,1 M ácido cítrico, 0,2 M Na₂HPO₃). A esta mistura foi adicionado 60 µL de extrato de cada amostra, e incubado por 15 min a 37°C. A reação foi interrompida com a adição de 75 µL de Na₂CO₃ (Sigma). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 405 nm. O coeficiente de extinção para p-nitrophenol, 18,400 foi usado no cálculo (Reid e Meier 1973), e a atividade expressa em pmol min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

3.4 Quantificação de proteínas

Para a análise de proteínas nas amostras, a absorbância foi medida em 595 nm usando um espectrofotômetro (Beckmam). A quantificação das proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976), utilizando uma curva de soro albumina bovino. O conteúdo de proteína foi expresso em mg g⁻¹ MF.

3.5 Isolamento de RNA, síntese de cDNA e análise de expressão gênica por RT-PCR quantitativo

Amostras de 60 sementes foram postas para germinar sobre duas folhas de papel de filtro Whatman N°. 1 umedecidas com 5 mL de água deionizada, em placas de Petri (90 x 15 mm), e incubadas no escuro ou sob $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, por 72 h à 25 °C. As amostras foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição, sendo imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenada posteriormente a -80 °C. O RNA total foi extraído de aproximadamente 100 mg das amostras, usando ReliaPrep TM RNA Tissue Miniprep System (Promega) de acordo com as instruções do fabricante. o RNA total e a integridade das amostras foram previamente analisados usando espectrofotômetro e gel de agarose a 1% (p / v). O RNA extraído foi dissolvido em água livre RNase e armazenado a -80°. Para a síntese de cDNA, Aproximadamente 1 μg de RNA total foi tratado com DNase (DNase I Amplification Grade, Thermo Fisher Scientific) por 30 min em temperatura ambiente e o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado usando o kit SuperScript ® IV Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific) de acordo com as instruções do fabricante.

As reações quantitativas de PCR (qPCR) foram realizadas usando o sistema StepOnePlus TM Real-Time PCR System (Applied Biosystems) usando 10 μL de mistura de reação composta por 5 μL de Power SYBR verde 2X (Thermo Fisher Scientific), 2 μL de amostra de cDNA e 200 nM de cada primer (Forward e Reverse). Para todos os genes os ciclos de reação foram: etapa inicial de desnaturação de 10 min a 95 ° C, seguida por 40 ciclos com 15 s 95 °C, 30 s 55/60 °C e 30 s 72 °C. Os resultados de fluorescência foram analisados usando o software LingReg PCR, e para normalizar as reações de qRT-PCR, os valores médios de dois genes referência foi usado como padrão interno, *SI-EXPRESSED* e *SI-CAC*, usados frequentemente para normalizar dados em tomateiro (Cruz et al., 2018). As sequências dos primers específicos para cada gene encontram-se na Tabela 1 do apêndice.

3.6 Análise histoquímica e espectrofotométrica da β -glucuronidase (GUS)

A análise da expressão de *pGA2Ox::GUS* e *pRD29B::GUS* em resposta às intensidades da LA foram realizadas com sementes às 36 e 72 h, após a semeadura, seguindo metodologia proposta por Goren et al. (2017). As sementes coletadas em cada tempo foram cortadas ao meio com lâmina de barbear e colocadas em solução de coloração GUS [0,75 mg/ml de X-gluc, 50 mM NaPO₄ (pH 7), 0,1 mM K₃Fe(SCN)₆, 0,1 mM K₄Fe(SCN)₆, 1 mM EDTA, 20% metanol, transferidas para o vácuo em temperatura ambiente por 5 min. Após isso foram incubadas no escuro por 2 h a 37 °C. Após a coloração, as sementes foram lavadas em etanol a 70%, e então fotografadas. A quantificação da atividade da GUS nas sementes foi realizada seguindo metodologia adaptada de Khan et al. (2011), que baseia na capacidade da GUS de hidrolisar o substrato p-nitrofenol β -D-glucuronídeo (PNPG), formando o p-nitrofenol (PNP). Para isso, aproximadamente 200 mg de sementes foram maceradas em 500 μ L de tampão de extração (50 mM NaPO₄ (pH 7), contendo 10 mM de mercaptoetanol, 1 mM de EDTA e 2% PVPP), sendo posteriormente centrifugado a 10.000 g por 5 minutos. A mistura reacional continha 170 μ L de tampão de reação (50 mM NaPO₄ (pH 7), contendo 10 mM de mercaptoetanol), 20 μ L de substrato PNPG (Sigma-Aldrich) 10 mM dissolvido em tampão de extração e 10 μ L do extrato de proteína, e incubado a 37 °C. Após 1,5 h foi adicionado o reagente de parada Na₂CO₃ (0,4 M, pH 11), e a absorbância foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 405 nm. Uma curva padrão de PNP (Sigma-Aldrich) em 50 mM NaPO₄ (pH 7) foi utilizada para o cálculo, e a atividade GUS expressa μ mol PNP min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

3.7 Esquema experimental e análise dos dados

O 1° experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso e arranjo fatorial do tipo 6 x 2, seis condições de luz (escuro (0), 1, 5, 10, 15 e 25 μ mol m⁻² s⁻¹ de LA) e dois genótipos MT e *pro* ou MT e *not*, com seis repetições (três utilizadas para avaliação de germinação e três para análises bioquímicas), composta por 40 sementes. O 2° e o 3° experimento, foram realizados em delineamento

inteiramente ao acaso, sendo cada cultivar transgênica; MT-*pGA2Ox::GUS* e MT-*pRD29B::GUS* em seis condições de luz (escuro (0), 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA), com três repetições de 40 sementes, cada genótipo. O 4º experimento, utilizado para verificar as diferenças entre WT e *cry1a* foi montado em delineamento inteiramente ao acaso e arranjo fatorial do tipo 6 x 2, sendo seis condições de luz (escuro (0), 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA) e dois genótipos (WT e *cry1a*) com seis repetições (três utilizadas para avaliação de germinação e três para análises bioquímicas), composta por 40 sementes. No 5º e 6º experimento realizou-se aplicação exógena de GA₃ e ABA, respectivamente, ambos em delineamento inteiramente ao acaso e arranjo fatorial do tipo 6 x 2, sendo seis condições de luz (escuro (0), 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA) e dois genótipos (WT e *cry1a*) com seis repetições (três utilizadas para avaliação de germinação e três para análises bioquímicas), composta por 40 sementes. Preliminarmente, foi realizada a análise de variância (ANOVA) em todos os experimentos, e quando houve diferenças significativas no teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, com auxílio do software Agro Estat (www.agroestat.com).

4. RESULTADOS

Este trabalho teve como foco principal investigar, por vários aspectos (fisiológicos, bioquímicos e moleculares), a influência da LA sobre a germinação de sementes de tomateiro. Primeiro, analisamos os efeitos da LA e sua associação com os hormônios ABA e GAs (usando sementes defectivas em NCED e DELLA), e seu papel relativo na atividade de enzimas que degradam o endosperma. Posteriormente, analisamos os efeitos da sinalização da LA mediada pelo fotorreceptor cry1a (usando sementes defectivas no cry1a) na redução ou aumento da sensibilidade das sementes à aplicação exógena de ABA e GA, atividade de hidrolases, e sua função na expressão de genes ligados ao metabolismo de ABA e GAs.

4.1 Efeito da luz azul na taxa de germinação de sementes de tomateiro defectivo na biossíntese do ABA e sinalização de GAs

Para investigar se a LA interage com as vias dos hormônios ABA e GAs, comparamos a taxa de germinação das sementes da cultivar Micro-Tom (MT) com a dos mutantes *procera* (*pro*) e *notabilis* (*not*), defectivos nas vias de sinalização de GAs e síntese de ABA, respectivamente. Nós observamos que, independentemente do genótipo, a taxa de germinação (G%) e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram diminuídos sob LA, em relação ao escuro (Figura 1, Tabelas 2 e 3 do Apêndice). Entretanto, tanto a G% quanto o IVG foram maiores nos mutantes, enquanto o tempo para atingir 50% de germinação (T50) foi diminuído, quando comparados ao MT (Figura 1, Tabelas 2 e 3 do Apêndice), indicando que DELLA e NCED estão envolvidos nas respostas induzidas pela LA para fotoinibição da germinação em sementes de tomateiro.

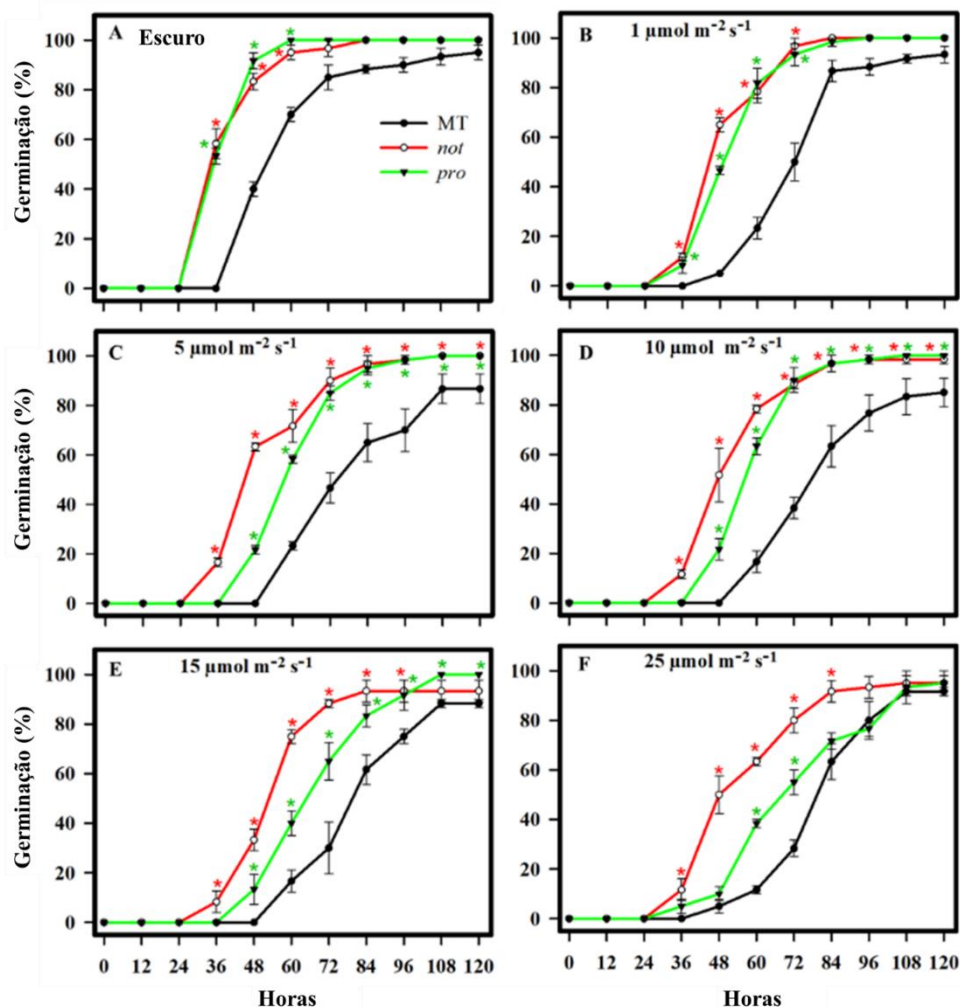


Figura 1. Análise da germinação em diferentes condições de luz azul. As sementes do controle Micro-Tom (MT), e dos mutantes *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (A), ou sob 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. A taxa de germinação foi contada a cada 12 h por um período de 120 h. Cada ponto representa a média $\pm$ SE de três réplicas com 40 sementes por repetição. Os asteriscos vermelho e verde representam *not* e *pro*, respectivamente, e indicam diferenças entre o mutante e a cultivar MT (teste de Tukey, $p < 0,05$).

4.2 Efeito da luz azul na atividade de hidrolases em sementes de tomateiro defectivo na biossíntese do ABA e sinalização de GAs

Considerando o fato de que as mudanças na atividade das enzimas relacionadas à hidrólise do endosperma da semente refletem no processo de

germinação, analisamos a atividade das hidrolases em dois momentos contrastantes do processo de germinação, 36 e 72 h após a embebição das sementes. As maiores intensidades da LA (5 a 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) promoveram um efeito negativo na atividade das enzimas em todos os genótipos às 36 h, exceto para endo- β -mananase no MT (Figura 2 e Tabela 4 do Apêndice). Entretanto, comparando-se os genótipos, a atividade da endo- β -mananase foi maior nos mutantes em relação ao MT na condição de escuro (Figura 2A), enquanto sob LA nenhuma diferença significativa foi observada entre os genótipos (Figura 2B-F). Às 72 h, a atividade da endo- β -mananase permaneceu maior no mutante *pro*, em relação ao MT, e não houve diferença entre os genótipos sob LA (Figura 2).

A atividade da β -manosidase foi reduzida nas maiores intensidades da LA, independentemente do genótipo (Figura 2). Notavelmente, houve tendência de maior atividade da β -manosidase nos mutantes, em relação ao cultivar MT às 36 h (Figura 2 e Tabela 5 do Apêndice). Por outro lado, às 72 h, a atividade desta enzima foi reduzida no mutante *not*, nas intensidades 1, 5 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA (Figura 2). Ao mesmo tempo, de 5 a 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, a atividade da β -manosidase foi maior no *pro*, comparado com MT (Figura 2I-M).

Em relação a α -galactosidase, aumentos pontuais em sua atividade foram observados às 36 h no mutante *not*, nas condições de escuro, 5 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparado ao MT (Figura 2 e Tabela 6 do Apêndice). No mutante *pro*, a atividade α -galactosidase foi aumentada no escuro, em 5, 10 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA (Figura 2). Às 72 h, houve redução na atividade da α -galactosidase no mutante *not*, independentemente das condições de luminosidade (Figura 2N-S). Ao mesmo tempo, com exceção a condição de escuro e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, foi observado maior atividade da α -galactosidase no mutante *pro*, em relação ao MT (Figura 2).

Em conjunto, estes resultados indicam que, além das mudanças significativas na atividade das enzimas entre os genótipos, a LA regula a atividade das hidrolases nos estágios iniciais da germinação (36 h), reduzindo a atividade enzimática com o aumento da intensidade da LA, independente do genótipo.

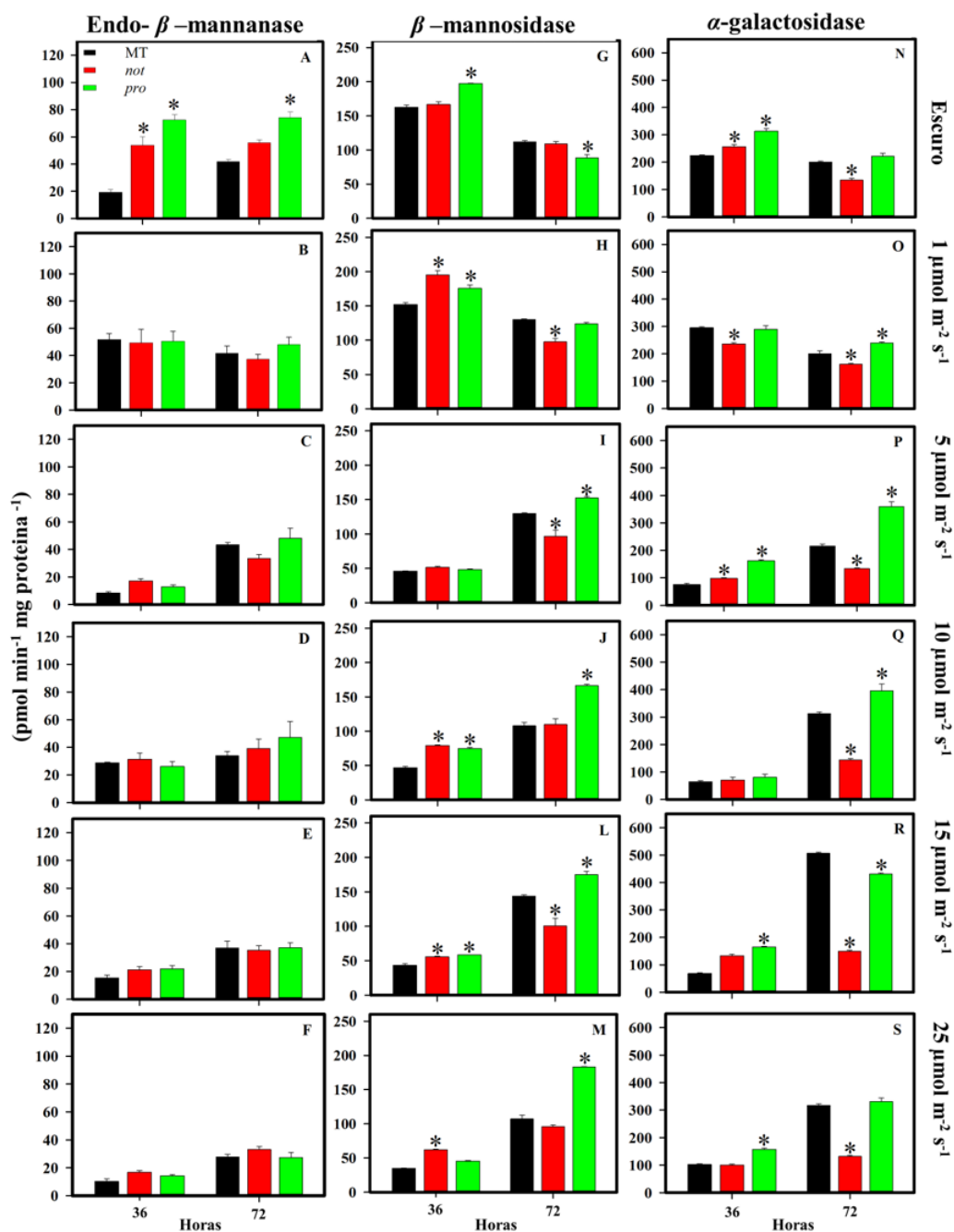


Figura 2. Análise de atividade enzimática na germinação em diferentes condições de luz. As sementes do controle Micro-Tom (MT), e dos mutantes *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) μmol m⁻² s⁻¹ de luz azul contínua. As sementes foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição. Os asteriscos sobre as barras indicam diferenças significativas entre o mutante e a cultivar MT (teste de Tukey, p < 0,05).

4.3 Efeito da luz azul na expressão de genes induzidos por GA e ABA

A fim de compreender melhor como a LA inibe a germinação, utilizamos sementes de tomateiros transgênicos que expressam o repórter β -glucuronidase (GUS) fusionado aos promotores de *GA2Ox* e *RD29B*, que são responsivos à GA e ABA, respectivamente (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki, 1993; Seo et al., 2006; Christmann et al., 2005; Dayan et al., 2012). Inicialmente, constatamos que esses genótipos apresentavam sensibilidade aos tratamentos de luz, e de forma semelhante às observações do estudo de germinação anterior, a G% e IVG foram reduzidos pelo aumento na intensidade de LA, em comparação com a condição escura (Figura 5 do Apêndice, Tabelas 7 e 8 do Apêndice). Além disso, o T50 foi aumentado sob LA em relação ao escuro (Tabela 8 do Apêndice).

As análises histoquímicas e espectrofotométricas da GUS realizadas às 36 h, mostraram a coloração GUS de *pGA2Ox::GUS* na região mediana do eixo embrionário e no endosperma, com maior atividade da GUS em sementes expostas ao escuro, em relação a LA (Figuras 5A e 6 do Apêndice). Por outro lado, às 72 h, a coloração GUS foi fortemente reduzida em sementes expostas ao escuro, comparadas à $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA (Figura 6 do Apêndice).

Quanto ao *pRD29B::GUS*, uma forte coloração GUS foi observada em todas as regiões do embrião e endosperma, às 36 h, principalmente na região da micrópila (Figura 6 do Apêndice). Nessas condições, observamos maior atividade da GUS em sementes embebidas no escuro, comparadas às sob LA (Figura 5D do Apêndice). Às 72 h, independentemente da condição de luz, todas as regiões do embrião e endosperma mantiveram uma forte coloração GUS; porém, a atividade da GUS foi reduzida significativamente em sementes expostas ao escuro ou sob 1 e $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparadas às maiores intensidades luminosas (Figuras 5D e 6 do Apêndice). Além disso, as sementes germinadas exibiram coloração GUS nas pontas das radículas, principais regiões de síntese do hormônio ABA. Considerando a especificidade dos promotores utilizados (*GA2Ox* e *RD29B*), nossos resultados sugerem que a LA altera os níveis relativos de GA e ABA nas sementes durante a germinação.

4.4 Efeito da sinalização da LA mediada pelo fotorreceptor *cry1a* na germinação

Com o objetivo de verificar os efeitos da sinalização da LA na regulação da germinação do tomateiro, sementes do mutante *cry1a* e seu controle correspondente WT foram utilizadas em ensaios de germinação, sob diferentes intensidades da LA. Para ambos os genótipos, a LA promoveu redução da G%, em relação ao escuro (Figura 3 e Tabela 9 do Apêndice). Entretanto, esses efeitos negativos da LA sobre a germinação foram diminuídos com o aumento do tempo de embebição das sementes, sobretudo no WT. Quando comparados os genótipos, na condição de escuro, a G% e IVG aumentaram significativamente no *cry1a* após 48 h de embebição das sementes (Figura 3A e Tabelas 9 e 10 do Apêndice). Por outro lado, de 1 a 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, tanto a G% quanto o IVG foram diminuídos no mutante (Figura 3B-F e Tabelas 9 e 10 do Apêndice). Nessas mesmas condições, o T50 aumentou em *cry1a* (Tabela 10), indicando que a atividade biológica do *cry1a* contribui para o vigor germinativo em sementes desta espécie, diminuindo o tempo entre a embebição e a conclusão da germinação sob LA.

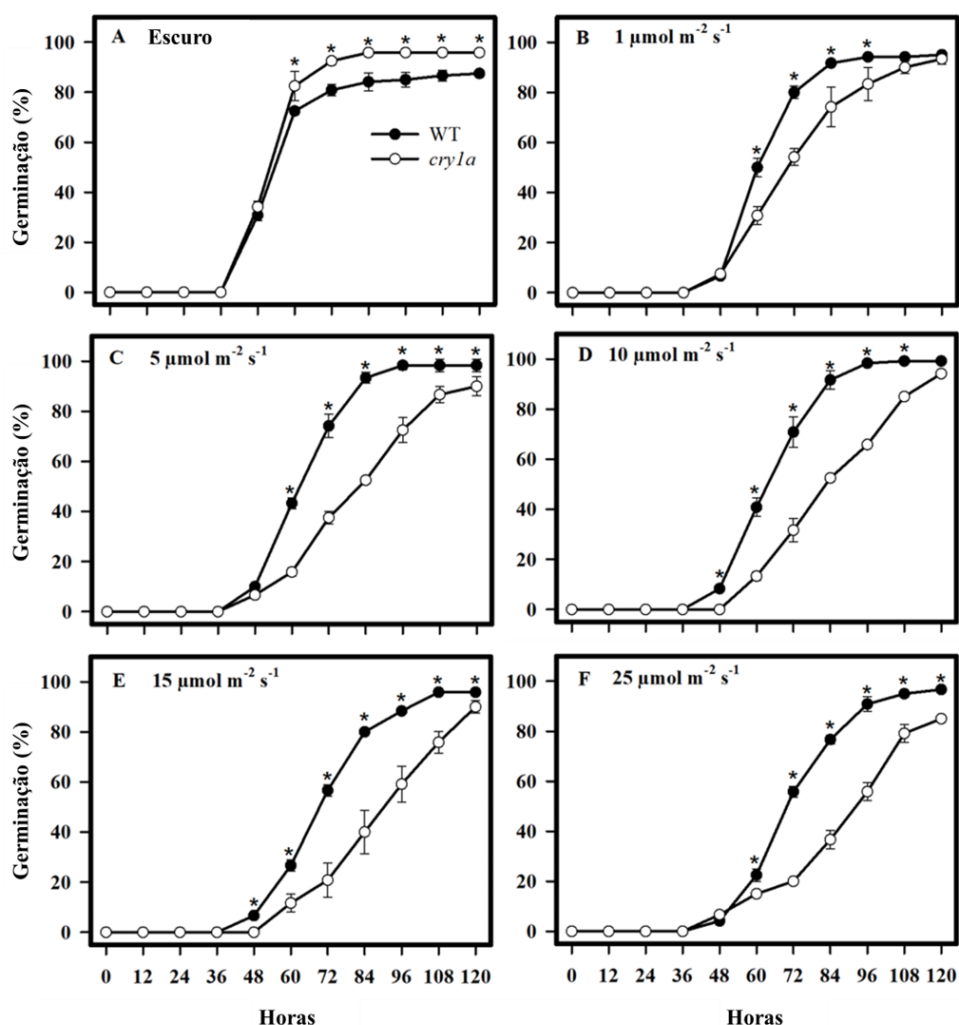


Figura 3. Análise da germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. A taxa de germinação foi contabilizada a cada 12 h por um período de 120 h. Cada ponto representa a média $\pm$ SE de três réplicas com 40 sementes por repetição. Diferenças entre as médias em cada ponto são mostradas com asteriscos (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Para verificar o possível envolvimento do *cry1a* com os principais hormônios reguladores da germinação (isto é, ABA e GA), as taxas de germinação de sementes de WT e *cry1a* foram avaliadas em condições distintas de luz, na presença de GA₃ (Figura 4 e Tabelas 11 e 12 do Apêndice) ou ABA (Figura 5 e Tabelas 13 e 14 do Apêndice).

No escuro, o GA₃ estimulou aumentos na G% de ambos os genótipos, em relação às sementes embebidas sob LA (Figura 4 e Tabela 11 do Apêndice). Entretanto, sob LA, a G% e IVG do mutante foram reduzidos, em comparação com WT (Figura 4, Tabelas 11 e 12 do Apêndice). Esses resultados mostram que a aplicação de GA₃ não recupera a perda de função no receptor *cry1a* sob LA.

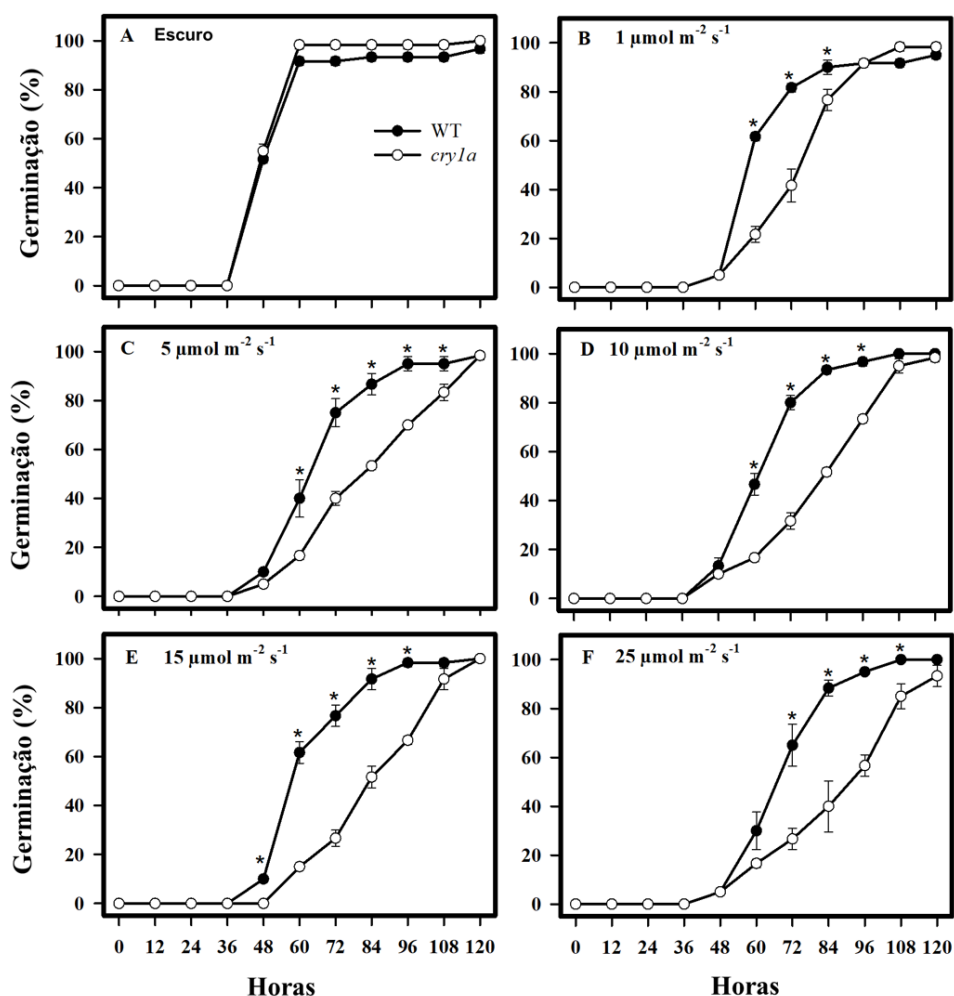


Figura 4. Análise da germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com GA₃, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. A taxa de germinação foi contabilizada a cada 12 h por um período de 120 h. Cada ponto representa a média $\pm$ SE de três réplicas com 40 sementes por repetição. Diferenças significativas entre as médias em cada ponto são mostradas com asteriscos (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Quando as sementes de ambos os genótipos foram embebidas em ABA, o efeito inibitório da LA sobre a germinação foi potencializado, reduzindo a G% e o IVG,

em relação às sementes embebidas na condição de escuro (Figura 5, Tabelas 13 e 14 do Apêndice). Nessas mesmas condições, houve aumento no T50 de ambos os genótipos, principalmente nas maiores intensidades de LA (Tabela 14 do Apêndice).

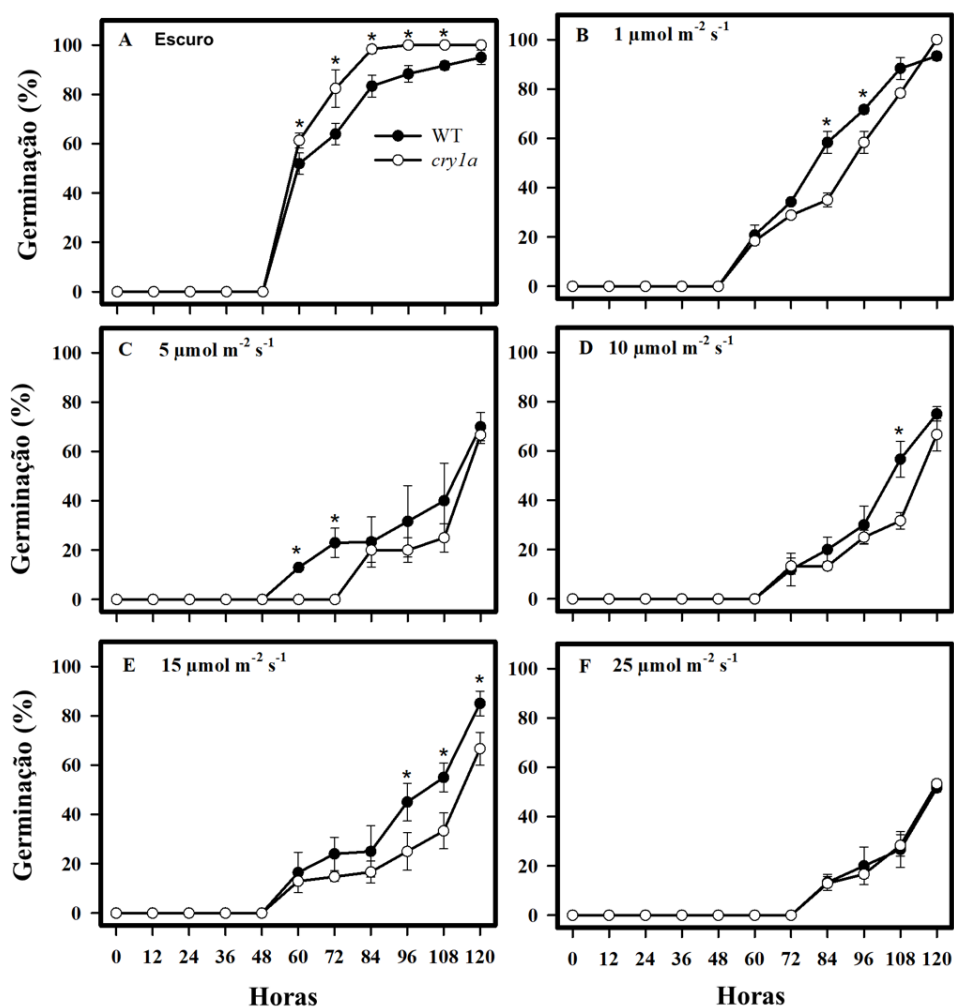


Figura 5. Análise da germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com ABA, no escuro (A), ou sob 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. A taxa de germinação foi contabilizada a cada 12 h por um período de 120 h. Cada ponto representa a média $\pm$ SE de três réplicas com 40 sementes por repetição. Diferenças significativas entre as médias em cada ponto são mostradas com asteriscos (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Curiosamente, na condição de escuro a G% do *cry1a* foi maior que do WT, entre 60 e 108 h após a embebição das sementes (Figura 5A). Por outro lado, sob LA, o WT exibiu maior tolerância ao efeito inibitório do ABA sobre a germinação, em

relação ao mutante *cry1a* (Figura 5B-F). Somados, a diminuição da responsividade ao GA₃ e a amplificação do efeito inibitório do ABA na germinação de ambos os genótipos são um indicativo de que os mecanismos controlados pela LA envolvem uma via complexa entre a sinalização de luz e hormônios por meio do *cry1a*.

4.5 Efeito da sinalização da LA mediada pelo fotorreceptor *cry1a* na atividade de hidrolases em sementes de tomateiro

As enzimas envolvidas no enfraquecimento do endosperma apresentaram variações em suas atividades, dependendo do genótipo e condição de luz (Figuras 6, 7 e 8). Porém, diferentemente da germinação, tanto para o WT quanto para o mutante *cry1a*, não foi possível observar tendência de redução ou aumento na atividade enzimática pelo aumento da intensidade da LA, independentemente da condição de embebição das sementes (Tabelas 15-23 do Apêndice).

Quando as sementes foram embebidas em água, foi observada redução da endo- β -mananase no mutante *cry1a* sob 1 e 5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e aumento sob 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em comparação com o WT às 36 h (Figura 6A e F). Exceto sob 1 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, também foram observadas reduções da endo- β -mananase no mutante *cry1a*, em relação ao WT às 72 h. A atividade da β -manosidase foi aumentada no mutante, comparado com o WT na condição de escuro ou sob 10 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, às 36 h (Figuras 6G, J e L). Ao mesmo tempo, sob 5 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA foi observada uma redução da β -manosidase no mutante, em relação ao WT (Figuras 6I e M). Após 72 h de embebição das sementes, o mutante *cry1a* exibiu maior atividade da β -manosidase sob 5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA (Figuras 6I), e menor na condição de escuro e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT (Figuras 6G e M). Curiosamente, com exceção de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, a atividade da α -galactosidase foi maior no mutante *cry1a*, comparado ao WT às 36 h (Figuras 6N-S). Além disso, também foram observadas diferenças significativas entre os genótipos às 72 h, com maior atividade da α -galactosidase no mutante *cry1a* na condição de escuro, e sob 10 e 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT (Figuras 6N, Q e R).

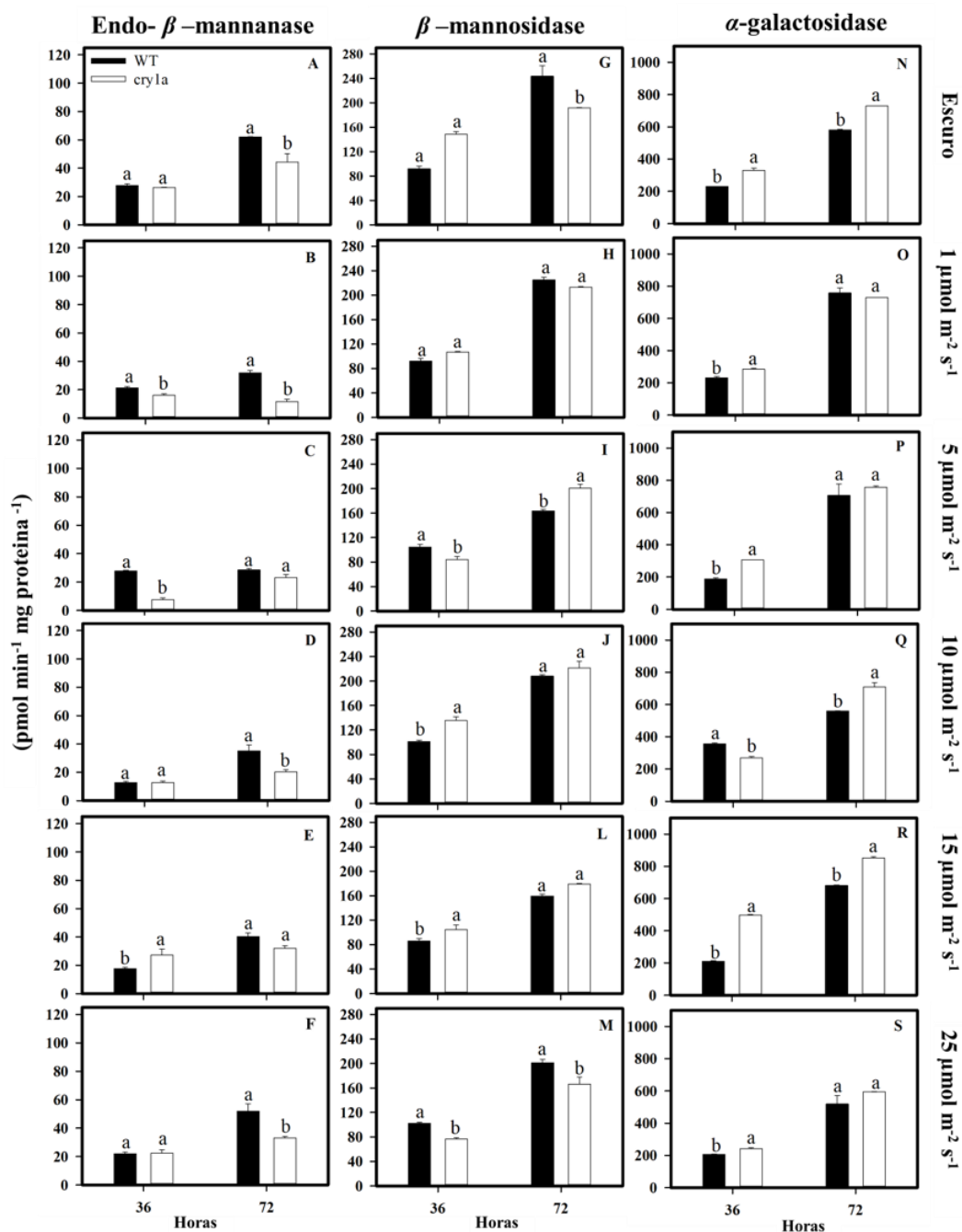
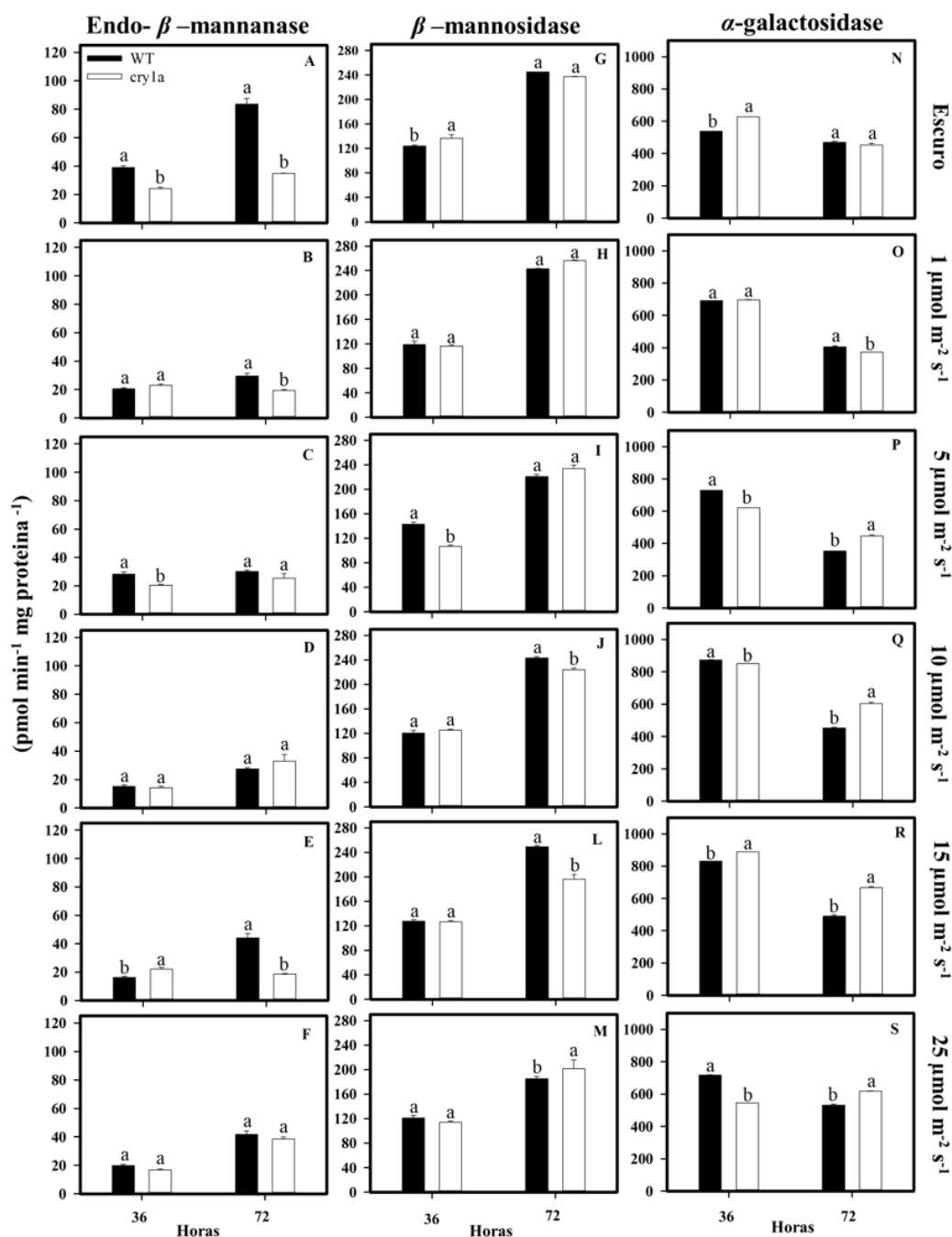


Figura 6. Análise de atividade enzimática na germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. As sementes foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre as cultivares, em cada condição de luz (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Quando embebidas em solução de GA_3 , as sementes do mutante *cry1a* apresentaram redução da endo-β-mannanase na condição de escuro e sob 1 e 5 μmol

$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, e aumento sob $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em comparação com o WT às 36 h (Figura 7A-F). No escuro, e sob 1 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, também foram observadas reduções da endo- β -mananase no mutante *cry1a*, em relação ao WT às 72 h (Figura 7A, E-F). A atividade da β -manosidase foi aumentada no mutante *cry1a*, na condição de escuro, e diminuída sob $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT às 36 h (Figura 7G e I). Às 72 h, o mutante *cry1a* exibiu menor atividade da β -manosidase sob 10 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA (Figura 7J e L), e maior sob $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT (Figura 7M). Quanto à α -galactosidase, foi observado maior atividade no mutante *cry1a* na condição de escuro ou sob $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparado ao WT às 36 h (Figura 7N e S). Ao mesmo tempo, nas sementes do mutante *cry1a* houve menor atividade da α -galactosidase sob 5, 10 e $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparado com WT (Figura 7P, Q e S). Às 72 h, foi observado aumento na atividade da α -galactosidase no mutante *cry1a* sob 5, 10, 15 e $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT (Figura 7P-S).



Figuras 7. Análise de atividade enzimática na germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com GA₃, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) μmol m⁻² s⁻¹ de luz azul contínua. As sementes foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre as cultivares, em cada condição de luz (teste de Tukey, p < 0,05).

Quando as sementes foram embebidas em solução de ABA, a atividade da endo-β-mannanase foi diminuída no mutante *cry1a* sob 10 e 15 μmol m⁻² s⁻¹ de LA, em

comparação com o WT às 36 h (Figura 8D-E). Às 72 h, houve aumento na atividade da endo- β -mananase no mutante *cry1a* na condição de escuro ou sob $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, e diminuição sob 5, 10 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, em relação ao WT (Figura 8A-F). A atividade da β -manosidase foi aumentada no mutante *cry1a* na condição de escuro ou sob $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, e diminuída em 10 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparado com o WT às 36 h (Figura 8G-M). Às 72 h, houve maior atividade da β -manosidase no mutante *cry1a* na condição de escuro ou sob 1 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, comparado com WT (Figura 8G, H e L). Curiosamente, tanto às 36 h quanto em 72 h, a atividade da α -galactosidase foi diminuída no mutante *cry1a*, na condição de escuro ou sob $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, quando comparado ao WT (Figura 8N). Ao mesmo tempo, sob 15 e $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA a atividade da α -galactosidase foi aumentada no mutante, em relação ao WT (Figura 8R e S).

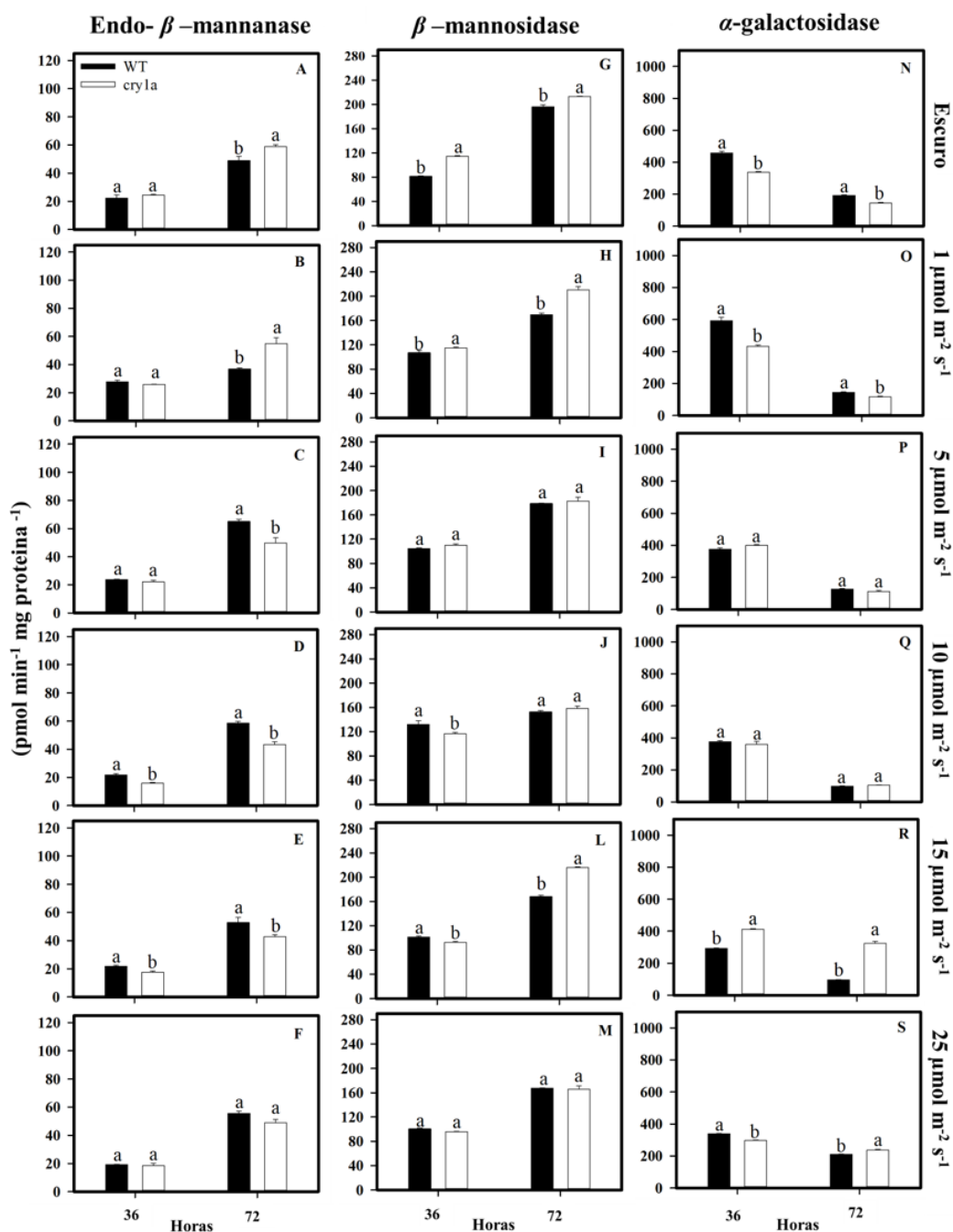


Figura 8. Análise de atividade enzimática na germinação em diferentes condições de luz. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com ABA, no escuro (A), ou sob, 1 (B), 5 (C), 10 (D), 15 (E) e 25 (F) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. As sementes foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças entre as cultivares, em cada condição de luz (teste de Tukey, $p < 0,05$).

4.6 Efeitos da LA nos padrões de expressão de genes ligados a percepção da luz pelo *cry1a* e metabolismo das GAs e ABA nas sementes

Para melhor compreender a possível relação entre a sinalização da LA e as vias das GAs e do ABA durante a germinação de sementes de tomateiro, a expressão dos genes que codificam o fotorreceptor de LA *cry1a*, bem como os envolvidos na síntese de GAs e ABA foram analisados após 36 e 72 h de embebição das sementes (Figura 9). Os níveis dos transcritos do *S/CRY1a*, tanto no escuro quanto na LA, foram semelhantes no mutante *cry1a*, e significativamente menores que os do WT (Figura 9A). Curiosamente, a expressão de *S/CRY1a* no WT foi maior no escuro do que na LA, às 36 h; ao contrário, às 72 h, os níveis dos transcritos de *S/CRY1a* foram maiores sob LA que no escuro (Figura 9A).

Para ambos os genótipos, a expressão dos genes de síntese de GAs foi maior no escuro do que sob LA às 36 h, exceto a *S/GA20-ox1* (Figura 9B-E). Entretanto, a expressão dos genes *S/GA20-ox1*, *S/GA20-ox3* e *S/GA3-ox2* foi maior no WT, comparado ao mutante *cry1a* na condição de escuro, às 36 h (Figura 9C, D e F). Curiosamente, tanto no escuro quanto sob LA, os genes de desativação de GAs, *S/GA2-ox4* e *S/GA2-ox5* foram mais expressos no WT do que no mutante *cry1a* às 36 h (Figura 9F e G).

Além disso, tanto no WT quanto no mutante *cry1a*, os genes *S/GA20-ox3* e *S/GA3-ox2* foram mais expressos sob LA do que no escuro, às 72 h (Figura 9F e G). Porém, algumas diferenças foram observadas entre os genótipos: na condição de escuro, os genes *S/GA20-ox1* e *S/GA20-ox2* foram mais expressos nas sementes do WT (Figura 9B e C), enquanto, *S/GA20-ox3* e *S/GA3-ox2* foram mais expressos nas sementes do mutante *cry1a*, independentemente da condição de luz (Figura 9D-E). Ao mesmo tempo, para ambos os genótipos os níveis dos transcritos de *S/GA2-ox4* e *S/GA2-ox5* foram aumentados significativamente sob LA. Entretanto, o padrão de expressão destes genes foi diferente entre os genótipos, com maior e menor expressão de *S/GA2-ox4* e *S/GA2-ox5*, respectivamente, no mutante *cry1a*, em comparação com WT (Figura 9D-E).

Os genes de síntese de ABA, *SINCE1* e *SINCE2* foram mais expressos nas sementes do WT às 36 h, quando comparado com mutante *cry1a* (Figura 9H e I). Às 72h, a expressão de *SINCE1* permaneceu maior no WT sob LA, em relação ao mutante *cry1a* (Figura 9H), e não houve alterações significativas na expressão de *SINCE2* entre os genótipos (Figura 9I).

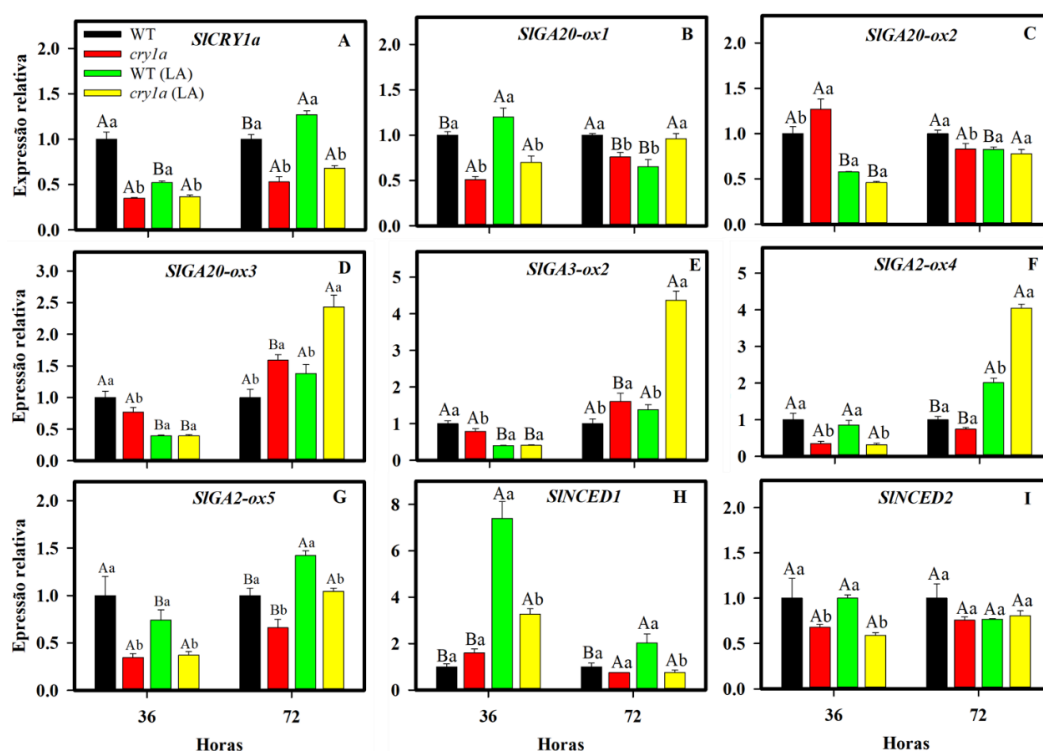


Figura 9. Análise de expressão de genes relacionados a sinalização da LA mediada pelo *cry1a* (A), metabolismo de GAs (B-G) e síntese de ABA (H-I) em sementes de tomate. As sementes do tipo selvagem (WT) e do mutante (*cry1a*) foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro, ou sob $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. As sementes foram coletadas às 36 e 72 h após a embebição. Para cada tempo de avaliação, a expressão relativa média foi normalizada contra amostras de sementes (WT) no escuro. Os dados são das médias $\pm$ SE de três réplicas biológicas. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças dentro de cada cultivar, enquanto letras maiúsculas diferentes indicam diferenças entre as cultivares (teste de Tukey, $p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

5.1 A inibição da germinação pela LA em tomateiro é dependente das vias de síntese de ABA, sinalização de GA e atividades das hidrolases

A luz é um fator ambiental essencial para o desenvolvimento das plantas e um sinal importante para a regulação da germinação, sendo parte de um mecanismo de percepção do ambiente para que as sementes germinem apenas sob condições favoráveis (Seo et al., 2009; Mérai et al., 2019). Estudos anteriores mostraram que em tomateiro a LA apresenta um efeito negativo à germinação (Piterková et al., 2012; Balarynová et al., 2018; Izzo et al., 2020). Entretanto, os mecanismos envolvidos na supressão da germinação pela LA nas sementes desta importante espécie foram pouco elucidados. Por isso, neste estudo, consideramos a possibilidade de que a LA interage com distintas vias hormonais durante a germinação, por exemplo, regulando a biossíntese de ABA e a sinalização de GA, controladas por NCED e DELLA, respectivamente. As proteínas DELLA interagem com fatores de transcrição que podem atuar na manutenção do estágio de dormência em sementes (Ravindran et al., 2017), enquanto a NCED catalisa uma etapa limitante da biossíntese do hormônio ABA, que também promove a dormência das sementes (Yang et al., 2015). Para estudar o envolvimento destas vias sobre a germinação de sementes sob LA, utilizamos sementes dos mutantes *not* e *pro*, deficientes em NCED e DELLA, respectivamente (Burbidge et al., 1999; Bassel et al., 2008; Livne et al., 2015). Nós observamos que as mutações promoveram aumentos na G% e IVG, em relação ao cultivar controle MT (Figura 1 e Tabelas 2 e 3 do Apêndice). Entretanto, os parâmetros avaliados (G% e IVG) também foram reduzidos nos mutantes com aumento da intensidade da LA (Tabelas 2 e 3 do Apêndice), indicando que, além das vias de NCED e DELLA, outros eventos fisiológicos e bioquímicos podem ser regulados pela LA para inibição da germinação em tomateiro.

Estudos anteriores em sementes de tomateiro revelaram que a hidrólise enzimática do endosperma contribui para o enfraquecimento dos compostos de armazenamento que restringem o crescimento do embrião e inibem a protrusão da radícula (Nakaune et al., 2012; Moles et al., 2019). Embora não seja surpreendente

que ABA e GA constituam parte fundamental dos mecanismos de controle dessas enzimas (Nonogaki et al., 2000; Mo e Bewley, 2003), também há evidências da participação da luz na atividade das hidrolases em sementes de tomateiro (Nomaguchi et al., 1995; Sánchez e Miguel, 1997; Auge et al., 2009; Nakaune et al., 2012). Neste estudo, demonstramos que, independentemente do genótipo, o aumento da intensidade da LA promove uma leve redução das enzimas β -manosidase e α -galactosidase às 36 h (Figura 2 e Tabelas 5 e 6 do Apêndice), coincidindo com as reduções na G% e IVG causada pela LA (Figura 1). Curiosamente, nessas mesmas condições a atividade da β -manosidase mostrou um leve aumento nos mutantes *pro* e *not*, em comparação com MT (Figura 2G-M). Além disso, às 72 h observamos variações na atividade enzimática, com destaque para as reduções da β -manosidase e α -galactosidase no mutante *not*, em relação ao MT (Figura 2N-S). Os motivos dessa redução no mutante *not* não estão totalmente compreendidos, e precisa de investigações mais aprofundadas. De fato, é esperado que tanto a β -manosidase quanto a α -galactosidase aumentem suas atividades de forma gradual ao longo do tempo embebição em sementes de tomateiro, alcançando níveis maiores de atividade entre 36 e 72 h (Moles et al., 2019). Esses resultados sugerem que a LA pode suprimir a germinação regulando negativamente a atividade de enzimas envolvidas no afrouxamento do endosperma nos estágios iniciais da embebição das sementes (36 h). Além disso, as reduções promovidas pela LA na atividade enzimática dos mutantes *pro* e *not*, indicam que este evento não decorre apenas de mudanças provocadas pela rápida progressão da germinação.

Subsequentemente, para verificar se a regulação da germinação de sementes pela LA é através do aumento ou decréscimo nos níveis de ABA e GA, analisamos a atividade do repórter GUS fusionado ao promotor de *GA2Ox* e *RD29B* em duas cultivares transgênicas, abordado e discutido abaixo.

5.2 A expressão de genes responsivos ao ABA e GA são dependentes da condição de luz

Foi mostrado que tanto o escuro quanto a LA podem induzir a expressão de genes envolvidos no metabolismo de ABA e GA em sementes (Barrero et al., 2014;

Balarynová et al., 2018; Stawska e Oracz, 2019). Nesse contexto, embora as concentrações de GA e ABA não tenham sido quantificadas neste estudo, a avaliação da expressão de promotores específicos de genes induzidos por ABA e GA pode ser um bom indicador do controle hormonal da germinação induzida pela luz, refletindo os níveis desses hormônios nas sementes. Neste estudo, a atividade da GUS ligada à *pGA2Ox* e *pRD29B*, promotores responsivos à GA e ABA, respectivamente (Yamaguchi-Shinozaki e Shinozaki, 1993; Seo et al., 2006; Christmann et al., 2005; Dayan et al., 2012), revelaram que a atividade GUS ligada a *pGA2Ox* é diminuída sementes expostas à LA às 36 h em relação ao escuro (Figura 5 do Apêndice). Por outro lado, reduções na atividade de *pGA2Ox* foram observadas tanto no escuro quanto nas menores intensidades de LA às 72 h (Figura 5B do Apêndice), não mostrando forte relação com os aumentos ou diminuições na G% e IVG (Figura 5 e Tabelas 7 e 8 do Apêndice). Curiosamente, a atividade GUS ligada ao promotor de *RD29B* também foi aumentada nas sementes expostas ao escuro às 36 h, em relação a LA (Figura 5D do Apêndice). Por outro lado, a atividade da GUS foi maior nas sementes expostas às maiores intensidades de LA às 72 h (Figura 5 do Apêndice), correspondendo à redução da G% e IVG, observada nessas intensidades de LA (Tabelas 7 e 8 do Apêndice). Esses resultados sugerem que o aumento da expressão de *pRD29B* pode estar associado a um aumento da concentração de ABA, conforme relatado anteriormente (Yamaguchi-Shinozaki e Shinozaki, 1993). Ressalta-se que, independentemente do tempo de avaliação e promotor gênico (*pGA2Ox* e *pRD29B*), as sementes expostas a 15 μmol de LA apresentaram atividade GUS reduzida (Figuras 5B-D do Apêndice), sugerindo uma resposta específica de intensidade luminosa, conforme relatado anteriormente para outros aspectos do desenvolvimento das plantas (D'Amico-Damião et al., 2021).

Além disso, robustas evidências apontam para o envolvimento do *cry1a* na modulação da germinação pela LA. Assim, investigamos se a ação e percepção da LA pelo *cry1a* regula a germinação de sementes, conforme será discutido abaixo.

5.3 O *cry1a* atenua os efeitos inibitórios da germinação de sementes de tomateiro sob LA

A germinação e dormência de sementes são processos divergentes, controlados pela luz e mediados por vários fotorreceptores (Seo et al., 2009; Barrero et al., 2014). A fotorregulação da germinação por luz vermelha mediada por *phys* foi bem demonstrado em tomate (Appenroth et al., 2006; Auge et al., 2009; Gavassi et al., 2014). Por outro lado, as respostas induzidas por LA e mediadas por criptocromos foram pouco exploradas durante a germinação desta importante espécie. Os estudos realizados em sementes de *Arabidopsis* revelaram que no mutante *cry1*, a taxa de germinação é reduzida sob LA (Lariguet et al., 2013; Poppe et al., 1998), enquanto a superexpressão de *Ta-CRY1a* aumenta a sensibilidade das sementes ao ABA (Xu et al., 2009), podendo assim, afetar negativamente a germinação. Em sementes de cevada, o *cry1a* transduz um sinal da LA que modula a expressão de genes responsáveis pela biossíntese de ABA, inibindo a germinação (Barrero et al., 2014; Hoang et al., 2014). No tomateiro, o *cry1a* desempenha papéis opostos sobre a morfologia e produção de sementes, incluindo aumento de peso e diminuição na quantidade de sementes por fruto (D'Amico-Damião et al., 2019; Fantini et al., 2019). Neste estudo, observamos que tanto no WT quanto no mutante *cry1a*, a LA retarda a germinação, em relação à condição de escuro (Figura 3 e Tabelas 9 e 10 do Apêndice). Curiosamente, a disfunção em *cry1a* aumenta o efeito negativo da LA sobre a germinação, diminuindo a G% e o IVG no mutante *cry1a*, em relação ao WT (Figura 3), indicando que em condições de LA, o *cry1a* pode ser um regulador positivo da germinação de sementes de tomateiro.

Ao contrário do ABA, as GAs são hormônios que induzem a germinação (Yang et al., 2015). De fato, observamos que a aplicação de GA₃ aumentou a G% e o IVG do WT e do mutante *cry1a* de forma semelhante no escuro (Figura 4 e Tabelas 11 e 12 do Apêndice); entretanto, a presença deste hormônio não neutralizou os efeitos negativos da LA na germinação destes genótipos, sobretudo no mutante *cry1a*.

Anteriormente foi mostrado que o aumento no conteúdo do ABA em sementes dormentes expostas a LA é o principal fator para o atraso na germinação mediado pelo *cry1a* (Barrero et al., 2014). Neste estudo, a aplicação de ABA potencializou os efeitos inibitórios da LA na germinação do cultivar WT e do mutante *cry1a* (Figura 5 e Tabelas 13 e 14 do Apêndice); porém, esse efeito foi significativamente maior no mutante *cry1a*, em determinados pontos de embebição

(96 e 108 h) das sementes e intensidades específicas da LA (10 e $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Estes resultados sugerem que a falta do *cry1a* pode resultar em aumento na sensibilidade do ABA nas sementes de tomateiro. Neste contexto, a fotorregulação da germinação pela LA pode envolver uma via complexa de sinalização mediada pelo *cry1a*, afetando a sensibilidade aos hormônios ABA e GA em sementes de tomateiro.

Dada a sua contribuição na atenuação dos efeitos negativos da LA à germinação, verificamos a possibilidade de que a LA module a atividade de importantes enzimas da germinação de sementes em tomateiro por meio da sinalização mediada pelo *cry1a*, mostrado no tópico seguinte.

5.4 A regulação da atividade das hidrolases pela LA é dependente da sinalização mediada pelo *cry1a*

O processo enzimático da quebra aleatória da cadeia principal de manano presente nas estruturas da parede celular das sementes é realizado principalmente pelas enzimas endo- β -mannanase e β -mannosidase, enquanto a clivagem da cadeia lateral decorre da ação de enzimas adicionais, como a α -galactosidase (Moreira et al., 2008). A ação sinérgica destas enzimas contribui para dois processos considerados fundamentais para a germinação: o afrouxamento do endosperma e o fornecimento de nutrientes para a retomada do crescimento embrionário (Nonogaki et al., 2000; Mo e Bewley, 2003). Anteriormente foi mostrado que a exposição de sementes de *Datura ferox* à luz vermelha contínua promove o aumento da atividade das enzimas endo- β -mannanase e β -mannosidase, mediado pelo phyA (Arana et al., 2007), sugerindo que os fotorreceptores influenciam não apenas na germinação, mas também na atividade de hidrolases. A atividade da endo- β -mananase medida às 36 e 72 h não apresentou um padrão bem definido nas sementes de WT e *cry1a*; entretanto, observamos uma ligeira redução nas sementes expostas à LA às 72 h, em relação ao escuro (Figuras 8, 9 e 10). Além disso, com exceção das sementes embebidas em ABA na condição de escuro e $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de LA, houve tendência de aumento na atividade da endo- β -mananase nas sementes do WT (Figuras 8, 9 e 10), o que evidencia a necessidade do *cry1a* funcional para a degradação do endosperma dependente da endo- β -mananase. Respostas diferentes foram observadas para a α -galactosidase, que teve

sua atividade aumentada no mutante *cry1a* em comparação com WT, na maioria das condições de embebição das sementes (Figuras 8, 9 e 10), o que pode estar relacionado à uma menor quantidade de monossacarídeos liberados no momento da avaliação devido à redução no IVG das sementes do mutante *cry1a*, reduzindo possivelmente a velocidade de hidrólise das reservas do endosperma; pois conforme mostrado anteriormente, a atividade dessa enzima é necessária para manter um fornecimento constante e equilibrado de monossacarídeos, porém o aumento de sacarose em grandes quantidades derivado do endosperma, pode resultar em diminuição na atividade da α -galactosidase (Arunraj et al., 2020). Embora as sementes do cultivar WT e do mutante *cry1a* tenham apresentado atividades enzimáticas distintas, como indicado acima, esses resultados mostram que os crys controlam a atividade de enzimas importantes para o processo fisiológico de germinação.

Contudo, a LA parece afetar negativamente os processos enzimáticos de hidrólise do endosperma durante a germinação. Porém, o efeito direto sobre a germinação é mais pronunciado em sementes defectivas no *cry1a*. Assim, analisamos se os efeitos da supressão da germinação pela LA foram devido às diferenças de expressão de genes envolvidos na sinalização da luz e metabolismo de ABA e GAs durante a germinação de sementes, conforme será demonstrado abaixo.

5.5 O *cry1a* medeia a repressão da germinação de sementes pela LA por meio de vias relacionadas ao metabolismo de ABA e GA

Os fotorreceptores de luz contribuem para regulação da germinação, afetando a expressão de genes envolvidos no metabolismo e sinalização de hormônios como o ABA e GA, principais moduladores da germinação (Auge et al., 2009). Neste contexto, os crys desempenham um importante papel sobre a expressão de genes em resposta a LA, mas sua função é variável em sementes de diferentes espécies: em cevada, a ação do *cry1a* resulta em aumento na expressão de um gene relacionado à biossíntese do ABA (*Hv-NCED1*), enquanto em *Arabidopsis* nenhuma alteração significativa na expressão deste gene foi atribuída para este fotorreceptor (Barrero et al., 2014; Stawska e Oracz, 2019). Neste estudo, mostramos que algumas respostas induzidas pela LA foram semelhantes entre o WT e o mutante *cry1a* (Figura 9). Por

exemplo, a expressão dos genes relacionados a síntese de GAs como *SIGA20-ox2*, *SIGA20-ox3* e *SIGA3-ox2* foram regulados negativamente pela LA às 36 h (Figura 9C-E). Ao mesmo tempo, a expressão de *SINCED1*, um gene de síntese de ABA, foi aumentada (Figura 9I), elevando possivelmente o conteúdo de ABA nas sementes, o que pode explicar o atraso na germinação de ambos os genótipos sob LA (Tabelas 10, 12 e 14 do Apêndice). Curiosamente, houve mudanças na expressão destes genes com o decorrer do tempo de embebição das sementes sob LA, e um leve aumento na expressão de *SIGA20-ox2* e *SIGA3-ox2* foi observado tanto no WT quanto no mutante *cry1a* às 72 h. Entretanto, nessas mesmas condições, a expressão dos genes envolvidos na desativação de GAs ativas, *SIGA2-ox4* e *SIGA2-ox5* também foram aumentados, interferindo assim na estabilidade das GAs durante a germinação.

Quando comparados os genótipos, foi possível constatar que a expressão de *SICRY1a* foi significativamente menor no mutante *cry1a*, em relação ao WT, consistente ao mostrado anteriormente (Liu et al., 2018). Entretanto, os genes relacionados as vias do ABA ou GAs exibiram níveis diferentes de expressão entre os genótipos durante a germinação (Figura 9). Surpreendentemente, os genes que desativam as GAs e sintetizam ABA exibiram tendência de aumento nas sementes do WT, em relação ao mutante *cry1a* (Figuras 9F-I). Entretanto, nessas mesmas condições, o WT exibiu menor inibição da germinação pela LA, quando comparado ao mutante *cry1a* (Figura 5). Isso pode estar relacionado à uma menor sensibilidade do WT ao ABA, pois o mutante *cry1a* apresentou um leve aumento da sensibilidade ao ABA, conforme mostrado anteriormente pelo aumento da inibição da germinação com a aplicação exógena do hormônio (Figura 5D). Essas diferenças de correspondência entre os perfis de expressão e a germinação também pode ser o reflexo de modificações pós-transcricional ou pós-traducionais que influenciam na quantidade das proteínas expressas (Downie et al., 2003; Kubala et al., 2015). Além disso, o aumento na expressão dos genes de desativação de GAs observado no WT pode ser atribuído a um mecanismo de controle dos níveis endógenos de GA, prevenindo o aumento excessivo deste hormônio (Yang et al., 2015; Chen et al., 2016). Portanto, embora os níveis de expressão dos genes de síntese de ABA e desativação de GAs tenham sido diminuídos no mutante *cry1a*, esses resultados sugerem que o *cry1a*

afeta diferentes vias regulatórias de transcrição e sinalização, que em último caso, favorece a germinação de sementes de tomateiro sob LA.

Em conjunto, nossos resultados evidenciam um intrincado processo de regulação da germinação pela LA, que envolve a supressão da atividade de hidrolases e das vias relacionadas ao metabolismo de GAs, enquanto induz às do ABA, com notável participação do fotorreceptor cry1a. Assim, nosso estudo fornece uma maior compreensão de como a LA influi sobre a germinação em tomateiro (Figura 10). Embora este experimento tivesse como foco principal aspectos relacionados às GAs, o ABA, e o cry1a, sabe-se que a participação de outros hormônios e fotorreceptores podem influenciar na sinalização da LA durante a germinação. Assim, novas análises baseadas em outros mutantes hormonais e fotomorfogênicos contribuirão para melhor compreensão acerca dos mecanismos de sinalização controlados pela LA para fotoinibição da germinação em tomateiro.

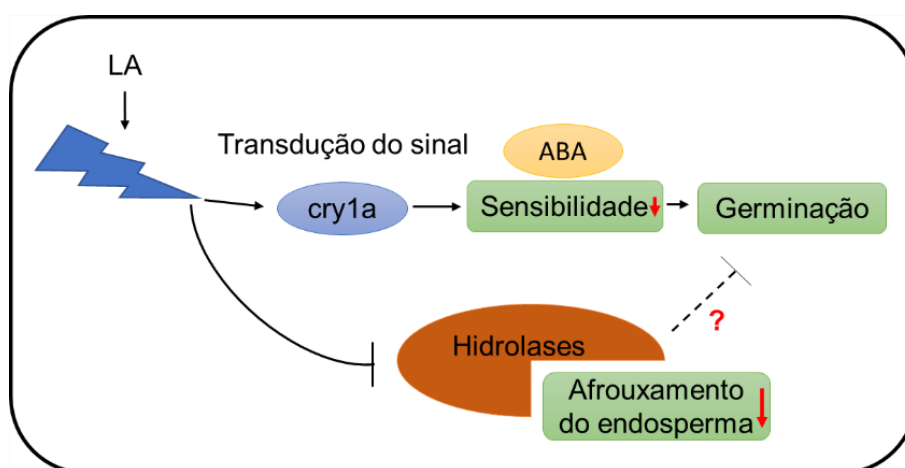


Figura 10. Esquema proposto dos principais eventos bioquímicos, fisiológicos e moleculares estimulados ou inibidos pela luz azul (LA) durante a germinação de sementes de tomateiro. A LA promove a inibição da germinação das sementes. Porém, o cry1a ativado por LA diminui a sensibilidade ao ácido abscísico (ABA) que resulta em aumento na taxa e velocidade de germinação das sementes. As enzimas responsáveis pela hidrólise do endosperma são reguladas negativamente pela LA, principalmente nos estágios iniciais da germinação (36 h após a embebição). Por sua vez, a inibição da atividade de hidrolases possivelmente reduz os efeitos de degradação e afrouxamento do endosperma, afetando negativamente o processo de germinação. Setas solidas representam efeito positivo direto e indireto, respectivamente. As linhas sólidas e tracejadas com barras indicam os efeitos negativos diretos e indiretos, respectivamente.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, nós observamos que a LA retarda a taxa de germinação das sementes de tomateiro. Esta resposta parece ser dependente dos efeitos da LA sobre a atividade hormonal de GA e ABA, pois nessa condição luminosa tanto a resposta constitutiva às GAs quanto a disfunção da NCED nas sementes, agem de forma positiva sobre o processo de germinação. Além disso, a abordagem transgênica da GUS revelou que as maiores intensidades da LA podem afetar os níveis de ABA, modificando a atividade do promotor de *RD29B*. A LA também tem um papel importante no afrouxamento da parede do endosperma, alterando a atividade de hidrolases durante a fase inicial da germinação. A presença do *cry1a* funcional é importante, pois aumenta a velocidade de germinação de sementes no tomateiro sob LA. Entretanto, o *cry1a* parece influenciar de maneira positiva a atividade da endo- β -mananase e negativa da α -galactosidase durante a germinação. Ademais, os níveis dos transcritos de genes relacionados a via de desativação de GAs e síntese de ABA é regulado de forma positiva pelo *cry1a*, contudo, não afeta a germinação das sementes contendo este fotorreceptor biologicamente ativo.

7. REFERÊNCIAS

- Aguirre M, Kiegle E, Leo G, Ezquer I (2018) Carbohydrate reserves and seed development: An overview. **Plant reproduction** 31: 263-290.
- Aneli, NA (1940) Inhibiting action of blue light upon germination of tomato seeds. **Comptes Rendus De L Academie Des Sciences De L Urss** 28: 267-69.
- Appenroth KJ, Lenk G, Goldau L, Sharma R (2006) Tomato seed germination: regulation of different response modes by phytochrome B2 and phytochrome A. **Plant, Cell & Environment** 29: 701-709.
- Arana MV, Burgin MJ, de Miguel LC, Sánchez RA (2007) The very-low-fluence and high-irradiance responses of the phytochromes have antagonistic effects on germination, mannan-degrading activities, and DfGA3ox transcript levels in *Datura ferox* seeds. **Journal of experimental botany** 58: 3997-4004.
- Arana MV, de Miguel LC, Sánchez RA (2006) A phytochrome-dependent embryonic factor modulates gibberellin responses in the embryo and micropylar endosperm of *Datura ferox* seeds. **Planta** 223: 847-57.
- Arana MV, SÁNCHEZ-LAMAS M, Strasser B, Ibarra SE, Cerdan PD, Botto JF, Sanchez RA (2014) Functional diversity of phytochrome family in the control of light and gibberellin-mediated germination in *Arabidopsis*. **Plant, cell & environment** 37: 2014-2023.
- Arunraj R, Skori L, Kumar A, Hickerson NM, Shoma N, Samuel MA (2020) Spatial regulation of alpha-galactosidase activity and its influence on raffinose family oligosaccharides during seed maturation and germination in *Cicer arietinum*. **Plant signaling & behavior** 15: 1709707.
- Attia Z, Pogoda CS, Reinert S, Kane NC, Hulke BS (2021) Breeding for sustainable oilseed crop yield and quality in a changing climate. **Theoretical and Applied Genetics** 134:1817-1827.
- Auge GA, Perelman S, Crocco CD, Sánchez RA, Botto JF (2009) Gene expression analysis of light-modulated germination in tomato seeds. **New Phytologist** 183: 301-314.
- Awan SA, Khan I, Rizwan M, Zhang X, Brestic M, Khan A, Huang L (2021) Exogenous abscisic acid and jasmonic acid restrain polyethylene glycol-induced drought by improving the growth and antioxidative enzyme activities in pearl millet. **Physiologia Plantarum** 172: 809-819.

Azzi L, Deluche C, Gévaudant F, Frangne N, Delmas F, Hernould M, Chevalier C (2015) Fruit growth-related genes in tomato. **Journal of experimental botany** 66: 1075-1086.

Bai Y, Lindhout P (2007) Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. **Annals of botany** 100: 1085-1094.

Balarynová J, Danihlík J, Fellner M (2018) Changes in plasma membrane aquaporin gene expression under osmotic stress and blue light in tomato. **Acta Physiologiae Plantarum** 40: 1-8.

Barrero JM, Downie AB, Xu Q, Gubler F (2014) A role for barley CRYPTOCHROME1 in light regulation of grain dormancy and germination. **The Plant Cell** 26: 1094-1104.

Barrero JM, Jacobsen JV, Talbot MJ, White RG, Swain SM, Garvin DF, Gubler F (2012) Grain dormancy and light quality effects on germination in the model grass *Brachypodium distachyon*. **New Phytologist** 193: 376-386.

Bassel GW, Mullen RT, Bewley JD (2008) *Procera* is a putative DELLA mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): effects on the seed and vegetative plant. **Journal of experimental botany** 59: 585-593.

Bassel GW, Mullen RT, Bewley JD (2001) α -Galactosidase is synthesized in tomato seeds during development and is localized in the protein storage vacuoles. **Canadian journal of botany** 79: 1417-1424.

Bassel GW, Zielinska E, Mullen RT, Bewley JD (2004) Down-regulation of DELLA genes is not essential for germination of tomato, soybean, and Arabidopsis seeds. **Plant Physiology** 136: 2782-2789.

Bewley JD, Banik M, Bourgault R, Feurtado JA, Toorop P, Hilhorst HW (2000) Endo- β -mannanase activity increases in the skin and outer pericarp of tomato fruits during ripening. **Journal of Experimental Botany** 51: 529-538.

Bi L, Weng L, Jiang Z, Xiao H (2018) The tomato IQD gene *SUN24* regulates seed germination through ABA signaling pathway. **Planta** 248: 919-931.

Blöchl A, Peterbauer T, Richter A (2007) Inhibition of raffinose oligosaccharide breakdown delays germination of pea seeds. **J. Plant Physiol** 164: 1093-1096.

Borthwick HA, Hendricks SB, Parker MW, Toole EH, Toole VK (1952) A reversible photoreaction controlling seed germination. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 38: 662.

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry** 72: 248-254.

Buckeridge MS, dos Santos HP, Tiné MAS (2000) Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry** 38: 141-156.

Burbidge A, Grieve TM, Jackson A, Thompson A, McCarty DR, Taylor IB (1999) Characterization of the ABA-deficient tomato mutant *notabilis* and its relationship with maize Vp14. **The Plant Journal** 17: 427-431.

Carrera E, Ruiz-Rivero O, Peres LEP, Atares A, Garcia-Martinez JL (2012) Characterization of the procera tomato mutant shows novel functions of the SIDEELLA protein in the control of flower morphology, cell division and expansion, and the auxin-signaling pathway during fruit-set and development. **Plant Physiology** 160: 1581-1596.

Carrillo-Barral N, Matilla AJ, Rodríguez-Gacio MDC, Iglesias-Fernández R (2018) Mannans and endo- β -mannanase transcripts are located in different seed compartments during Brassicaceae germination. **Planta** 247: 649-661.

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

Carvalho RF, Takaki M, Azevedo RA (2011a) Plant pigments: the many faces of light perception. **Acta Physiologiae Plantarum** 33: 241-48.

Casal JJ, Sánchez RA, Botto JF (1998) Modes of action of phytochromes. **Journal of Experimental Botany** 49: 127-138.

Chaudhary J, Alisha A, Bhatt V, Chandanshive S, Kumar N, Mir Z, Deshmukh R (2019) Mutation breeding in tomato: advances, applicability and challenges. **Plants** 8: 128.

Chen S, Wang X, Zhang L, Lin S, Liu D, Wang Q, Li Y (2016) Identification and characterization of tomato gibberellin 2-oxidases (GA2oxs) and effects of fruit-specific SIGA2ox1 overexpression on fruit and seed growth and development. **Horticulture research** 3: 16059.

Chen K, Li GJ, Bressan RA, Song CP, Zhu JK, Zhao Y (2020a) Absciscic acid dynamics, signaling, and functions in plants. **Journal of Integrative Plant Biology** 62: 25-54.

Chen Y, Fu Z, Zhang H, Tian R, Yang H, Sun C, Tang J (2020b) Cytosolic malate dehydrogenase 4 modulates cellular energetics and storage reserve accumulation in maize endosperm. **Plant biotechnology journal** 18: 2420-2435.

Cheng WH, Endo A, Zhou L, Penney J, Chen HC, Arroyo A, Sheen J (2002) A unique short-chain dehydrogenase/reductase in Arabidopsis glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. **The Plant Cell** 14: 2723-2743.

Chinnusamy V, Gong Z, Zhu JK (2008) Absciscic acid-mediated epigenetic processes in plant development and stress responses. **Journal of integrative plant biology** 50: 1187-1195.

Christmann A, Hoffmann T, Teplova I, Grill E, Muller A (2005) Generation of active pools of abscisic acid revealed by in vivo imaging of water-stressed Arabidopsis. **Plant physiology** 137: 209-219.

Clemente ACS, Guimaraes RM, Martins DC, Gomes LAA, Caixeta F, Reis RGE (2015) Expression of genes associated with the biosynthetic pathways of abscisic acid, gibberellin, and ethylene during the germination of lettuce seeds. **Genetics and Molecular Research** 14: 4703-15.

Costa A, Dias AS, Grenho MG, Dias LS (2016) Effects of dark or of red, blue or white light on germination of subterranean clover seeds. **Emirates Journal of Food and Agriculture** 853-864.

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: 1370.

D'Amico-Damião V, Dodd IC, Oliveira R, Lúcio JC, Rossatto DR, Carvalho RF (2021) Cryptochrome 1a of tomato mediates long-distance signaling of soil water deficit. **Plant Science** 303: 110763.

D'Amico-Damião V, dos Santos JC, Girotto NC, Carvalho RF (2019) Cryptochrome 1a influences source-sink partitioning during different stages of growth in tomato. **Theoretical and Experimental Plant Physiology** 31: 295-302.

D'Amico-Damião V, Lúcio JCB, Oliveira R, Gaion LA, Barreto RF, Carvalho RF (2021) Cryptochrome 1a depends on blue light fluence rate to mediate osmotic stress responses in tomato. **Journal of Plant Physiology** 258:153374,.

D'Amico-Damião V, Barreto RF, de Oliveira Garcia LF, Porto JS, de Mello Prado R, Carvalho RF (2022) Cryptochrome 1a of tomato modulates nutritional deficiency responses. **Scientia Horticulturae** 291: 110577.

Dahal P, Nevins DJ, Bradford KJ (1997) Relationship of endo- β -D-mannanase activity and cell wall hydrolysis in tomato endosperm to germination rates. **Plant Physiology** 113: 1243-1252.

Dayan J, Voronin N, Gong F, Sun TP, Hedden P, Fromm H, Aloni R (2012) Leaf-induced gibberellin signaling is essential for internode elongation, cambial activity, and fiber differentiation in tobacco stems. **The Plant Cell** 24: 66-79.

Dissanayake P, George DL, Gupta ML (2010) Effect of light, gibberellic acid and abscisic acid on germination of guayule (*Parthenium argentatum* Gray) seed. **Industrial Crops and Products** 32: 111-117.

Dong H, Hu C, Liu C, Wang J, Zhou Y, Yu J (2021) Elongated hypocotyl 5 mediates blue light-induced starch degradation in tomato. **Journal of Experimental Botany** 72: 2627-2641.

Downie B, Gurusinghe S, Dahal P, Thacker RR, Snyder JC, Nonogaki H, Bradford KJ (2003) Expression of a GALACTINOL SYNTHASE gene in tomato seeds is up-regulated before maturation desiccation and again after imbibition whenever radicle protrusion is prevented. **Plant Physiology** 13: 1347-1359.

Downie B, Hilhorst HW, Bewley JD (1994) A new assay for quantifying endo- β -D-mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry** 36: 829-835.

Eckstein A, Jagieilo-Flasinska D, Lewandowska A, Hermanowicz P, Appenroth KJ, Gabrys H (2016) Mobilization of storage materials during light-induced germination of tomato (*Solanum lycopersicum*) seeds. **Plant Physiology and Biochemistry** 105: 271-81.

Evenari M, Neumann G, Stein G (1957) Action of blue light on the germination of seeds. **Nature** 180: 609-10.

Facella P, Lopez L, Chiappetta A, Bitonti MB, Giuliano G, Perrotta G (2006) CRY-DASH gene expression is under the control of the circadian clock machinery in tomato. **FEBS letters** 580: 4618-4624.

Fantini E, Facella P (2020) Cryptochromes in the field: how blue light influences crop development. **Physiologia Plantarum** 169: 336-346.

Fantini E, Sulli M, Zhang L, Aprea G, Jiménez-gómez JM (2019) Pivotal roles of cryptochromes 1a and 2 in tomato development and physiology. **Plant physiology** 179: 732-748.

Fellner M, Sawhney VK (2002) The 7B-1 mutant in tomato shows blue-light-specific resistance to osmotic stress and abscisic acid. **Planta** 214: 675-82.

Feurtado JA, Banik M, Bewley JD (2001) The cloning and characterization of α -galactosidase present during and following germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed. **Journal of Experimental Botany** 52: 1239-1249.

Galvão VC, Fankhauser C (2015) Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. **Current opinion in neurobiology** 34: 46-53.

Gavassi MA, Fernandes GC, Monteiro CC, Peres LEP, Carvalho RF (2014) Seed germination in tomato: A focus on interaction between phytochromes and gibberellins or abscisic acid. **American Journal of Plant Sciences**: 2163-2169.

Goggin DE, Steadman KJ, Powles SB (2008) Green and blue light photoreceptors are involved in maintenance of dormancy in imbibed annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds. **New Phytologist** 180: 81-89.

Goren S, Lugassi N, Stein O, Yeselson Y, Schaffer AA, David-Schwartz R, Granot D (2017) Suppression of sucrose synthase affects auxin signaling and leaf morphology in tomato. **PLoS One** 12: e0182334.

Groot SPC, Kieliszewska-Rokicka B, Vermeer E, Karssen CM (1988) Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls in gibberellin-deficient tomato seeds prior to radicle protrusion. **Planta** 174: 500-504.

Gu D, Ji R, He C, Peng T, Zhang M, Duan J, Liu X (2019) Arabidopsis histone methyltransferase SUVH5 is a positive regulator of light-mediated seed germination. **Frontiers in plant Science** 10: 841.

Gu JT, Kang J, Lian J, Zhang XC, Zhang TT, Zhang JF (2016) Effects of salicylic acid on seed germination and biochemical properties in seedlings of *Lactuca sativa* L. under high temperature stress. Pp. 117-21 in **Xxix International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes**, edited by C. J. Birch, B. Searle, and E. Heuvelink.

Gubler F, Hughes T, Waterhouse P, Jacobsen J (2008) Regulation of dormancy in barley by blue light and after-ripening: effects on abscisic acid and gibberellin metabolism. **Plant physiology** 147: 886-896.

Gupta R, Chakrabarty SK (2013) Gibberellic acid in plant: still a mystery unresolved. **Plant signaling & behavior** 8: e25504.

Guzmán-Ortiz FA, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA, Mora-Escobedo R, Rojas-León A, Rodríguez-Marín ML, Román-Gutiérrez AD (2019) Enzyme activity during germination of different cereals: A review. **Food Reviews International** 35: 177-200.

Hedden P (2020) The current status of research on gibberellin biosynthesis. **Plant and Cell Physiology** 61: 1832-1849.

Hedden P, Thomas SG (2012) Gibberellin biosynthesis and its regulation. **Biochemical Journal** 444: 11-25.

Hedden P, Sponsel V (2015) A century of gibberellin research. **Journal of plant growth regulation** 34: 740-760.

Hernández-García J, Briones-Moreno A, Blázquez MA (2021) **Origin and evolution of gibberellin signaling and metabolism in plants**. In Seminars in cell & developmental biology (Vol. 109, pp. 46-54). Academic Press.

Hilhorst HWM, Groot SPC, Bino RJ (1998) The tomato seed as a model to study seed development and germination. **Acta Botanica Neerlandica** 47: 169-183.

Hilhorst HWM, Karssen CM (1992) Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. **Plant Growth Regulation** 11: 225-38.

Hirose F, Inagaki N, Hanada A, Yamaguchi S, Kamiya Y, Miyao A, Hirochika H, Takano M (2012) Cryptochrome and Phytochrome Cooperatively but Independently Reduce Active Gibberellin Content in Rice Seedlings under Light Irradiation. **Plant and Cell Physiology** 53: 1570-82.

Hoang HH, Sechet J, Bailly C, Leymarie J, Corbineau F (2014) Inhibition of germination of dormant barley (*Hordeum vulgare* L.) grains by blue light as related to oxygen and hormonal regulation. **Plant, cell & environment** 37: 1393-1403.

Hofmann N (2014) "Cryptochromes and Seed Dormancy: The Molecular Mechanism of Blue Light Inhibition of Grain Germination. **Plant Cell** 26: 846-46.

Hu YR, Yu DQ (2014) BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 Interacts with ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 to Mediate the Antagonism of Brassinosteroids to Absciscic Acid during Seed Germination in Arabidopsis. **Plant Cell** 26: 4394-408.

Iglesias-Fernández R, Pastor-Mora E, Vicente-Carbajosa J, Carbonero P (2020) A possible role of the aleurone expressed gene HvMAN1 in the hydrolysis of the cell wall mannans of the starchy endosperm in germinating *Hordeum vulgare* L. seeds. **Frontiers in plant science** 10: 1706.

Iglesias-Fernández R, Rodríguez-Gacio MC, Barrero-Sicilia C, Carbonero P, Matilla A (2011) Three endo- β -mannanase genes expressed in the micropylar endosperm and in the radicle influence germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta** 233: 25-36.

Izzo LG, Hay MB, Vitale L, Vitale E, Arena C (2020) The role of monochromatic red and blue light in tomato early photomorphogenesis and photosynthetic traits. **Environmental and Experimental Botany** 179: 104195.

Jacobsen JV, Barrero JM, Hughes T, Julkowska M, Taylor JM, Xu Q, Gubler F (2013) "Roles for blue light, jasmonate and nitric oxide in the regulation of dormancy and germination in wheat grain (*Triticum aestivum* L.). **Planta** 238: 121-38.

Joseph MP, Papdi C, Kozma-Bognar L, Nagy I, Lopez-Carbonell M, Rigo G, Koncz C, Szabados L (2014) The Arabidopsis ZINC FINGER PROTEIN3 Interferes with Absciscic Acid and Light Signaling in Seed Germination and Plant Development. **Plant Physiology** 165: 1203-20.

Kaur M, Tak Y, Bhatia S, Asthir B, Lorenzo JM, Amarowicz R (2021) Crosstalk during the Carbon–Nitrogen Cycle That Interlinks the Biosynthesis, Mobilization and Accumulation of Seed Storage Reserves. **International journal of molecular sciences** 22: 12032.

Kepczynski, J, Bialecka B (1997) The role of methyl jasmonate in germination of *Amaranthus caudatus* L. seeds. In **Basic and Applied Aspects of Seed Biology** Springer, Dordrecht p. 523-529.

Khan W, Hiltz D, Critchley AT, Prithiviraj B (2011) Bioassay to detect Ascophyllum nodosum extract-induced cytokinin-like activity in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Applied Phycology** 23: 409-414.

Kimura S, Sinha N (2008) Tomato (*Solanum lycopersicum*): a model fruit-bearing crop. **Cold Spring Harbor Protocols** 11: pdb-emo105.

Kim SY, Hwang SJ, Lee IJ, Shin DH, Park ST, Yeo US, Kang HW (2009) Effect of light on endogenous levels of gibberellin and abscisic acid in seed germination of photoblastic weedy rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Crop Science and Biotechnology** 12: 149-152.

Kubala S, Wojtyła Ł, Quinet M, Lechowska K, Lutts S, Garnczarska M (2015) Enhanced expression of the proline synthesis gene P5CSA in relation to seed osmopriming improvement of Brassica napus germination under salinity stress. **Journal of Plant Physiology** 183: 1-12.

Kumar M, Tomar M, Bhuyan DJ, Punia S, Grasso S, Sa AGA, Mekhemar M (2021) Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seed: A review on bioactives and biomedical activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 142: 112018.

Lara-Núñez A, Sánchez-Nieto S, Luisa Anaya A, Cruz-Ortega R (2009) Phytotoxic effects of *Sicyos deppei* (*Cucurbitaceae*) in germinating tomato seeds. **Physiologia Plantarum** 136: 180-192.

Lariguet P, Ranocha P, Meyer M, Barbier O, Penel C, Dunand C (2013) Identification of a hydrogen peroxide signalling pathway in the control of light-dependent germination in Arabidopsis. **Planta** 238: 381-395.

Lee KP, Piskurewicz U, Turečková V, Carat S, Chappuis R, Strnad M, Lopez-Molina L

(2012) Spatially and genetically distinct control of seed germination by phytochromes A and B. **Genes & development** 26: 1984-1996.

Leung DW, Bewley JD (1981) Red-light-and gibberellic-acid-enhanced α -galactosidase activity in germinating lettuce seeds, cv. Grand Rapids. **Planta** 152: 436-441.

Li Y, Wang H, Zhang Y, Martin C (2018) Can the world's favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites?. **Plant cell reports** 37:1443-1450.

Li YY, Wang C, Liu XY, Song J, Li HJ, Sui ZP, Zhang M, Fang S, Chu JF, Xin MM, Xie CJ, Zhang YR, Sun QX, Ni ZF (2016a) Up-regulating the abscisic acid inactivation gene ZmABA8ox1b contributes to seed germination heterosis by promoting cell expansion. **Journal of Experimental Botany** 67: 2889-900.

Li ZH, Zhang J, Liu YL, Zhao JH, Fu JJ, Ren XL, Wang GY, Wang J. H (2016b) Exogenous auxin regulates multi-metabolic network and embryo development, controlling seed secondary dormancy and germination in *Nicotiana tabacum* L. **BMC plant biology** 16: 1-15.

Lisboa CGS, Tonini PP, Tiné MAS, Buckeridge MS (2006) Endo-beta-mannanase from the endosperm of seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (*Leguminosae*): purification, characterisation and its dual role in germination and early seedling growth. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 18: 269-280.

Liu CC, Ahammed GJ, Wang GT, Xu CJ, Chen KS, Zhou YH, Yu JQ (2018) Tomato CRY1a plays a critical role in the regulation of phytohormone homeostasis, plant development, and carotenoid metabolism in fruits. **Plant, cell & environment** 41: 354-366.

Liu X, Hou X (2018) Antagonistic regulation of ABA and GA in metabolism and signaling pathways. **Frontiers in plant science** 9: 251.

Livne S, Lor VS, Nir I, Eliaz N, Aharoni A, Olszewski NE, Eshed Y, Weiss D (2015) Uncovering DELLA-independent gibberellin responses by characterizing new tomato procera mutants. **The Plant Cell** 27: 1579-1594.

Mérai Z, Graeber K, Wilhelmsson P, Ullrich KK, Arshad W, Grosche C, Tarkowská D, Turečková V, Strnad M, Rensing SA, Leubner-Metzger G, Scheid OM (2019) *Aethionema arabicum*: a novel model plant to study the light control of seed germination. **Journal of experimental botany** 70: 3313-3328.

Miransari M, Smith DL (2014) Plant hormones and seed germination. **Environmental and experimental botany** 99: 110-121.

Mishra S, Khurana JP (2017) Emerging roles and new paradigms in signaling mechanisms of plant cryptochromes. **Critical Reviews in Plant Sciences** 36: 89-115.

Mo B, Bewley JD (2002) β -Mannosidase (EC 3.2. 1.25) activity during and following germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. Purification, cloning and characterization. **Planta** 215: 141-152.

Mo B, Bewley JD (2003) The relationship between β -mannosidase and endo- β -mannanase activities in tomato seeds during and following germination: a comparison of seed populations and individual seeds. **Journal of Experimental Botany** 54: 2503-2510.

Moles TM, Guglielminetti L, Reyes TH (2019) Differential effects of sodium chloride on germination and post-germination stages of two tomato genotypes. **Scientia Horticulturae** 257: 108730.

Monforte AJ, Diaz A, Caño-Delgado A, Van Der Knaap E (2013) The genetic basis of fruit morphology in horticultural crops: lessons from tomato and melon. **Journal of experimental botany** 65: 4625-4637.

Moral J, Lozano-Baena MD, Rubiales D (2015) Temperature and water stress during conditioning and incubation phase affecting *Orobanche crenata* seed germination and radicle growth. **Frontiers in Plant Science** 6: 408.

Moreira LRS (2008) An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. **Applied microbiology and biotechnology** 79: 165-178.

Mulholland BJ, Taylor IB, Jackson AC, Thompson AJ (2003) Can ABA mediate responses of salinity stressed tomato. **Environmental and Experimental Botany** 50: 17-28.

Nakagawa A, Itoyama H, Ariyoshi Y, Ario N, Tomita Y, Kondo Y, Ishibashi Y (2018) Drought stress during soybean seed filling affects storage compounds through regulation of lipid and protein metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum** 40: 1-8.

Nakaune M, Hanada A, Yin YG, Matsukura C, Yamaguchi S, Ezura H (2012) Molecular and physiological dissection of enhanced seed germination using short-term low-concentration salt seed priming in tomato. **Plant Physiology and Biochemistry** 52: 28-37.

Nambara E, Marion-Poll A (2005) Absciscic acid biosynthesis and catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol* 56: 165-185.

Nawaz T, Ahmad N, Ali S, Khan M, Fazal H, Khalil SA (2018) Developmental variation during seed germination and biochemical responses of *Brassica rapa* exposed to

various colored lights. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology** 179: 113-118.

Nemahunguni NK, Gupta S, Kulkarni MG, Finnie JF, Van Staden J (2020) The effect of biostimulants and light wavelengths on the physiology of *Cleome gynandra* seeds. **Plant Growth Regulation** 90: 467-474.

Nick C, Silva HJD, Borém A (2018) **Tomate do Plantio à Colheita**. Viçosa: UFV, p. 237.

Ninu L, Ahmad M, Miarelli C, Cashmore AR, Giuliano G (1999) Cryptochrome 1 controls tomato development in response to blue light. **Plant Journal** 18: 551-56.

Nomaguchi M, Nonogaki H, Morohashi Y (1995) Development of galactomannan-hydrolyzing activity in the micropylar endosperm tip of tomato seed prior to germination. **Physiologia Plantarum** 94: 105-109.

Nonogaki H (2014) Seed dormancy and germination-emerging mechanisms and new hypotheses. **Frontiers in plant Science** 5: 233.

Nonogaki H (2019) Seed germination and dormancy: The classic story, new puzzles, and evolution. **Journal of Integrative Plant Biology** 61: 541-563.

Nonogaki H, Gee OH, Bradford KJ (2000) A germination-specific endo β mannanase gene is expressed in the micropylar endosperm cap of tomato seeds. **Plant Physiology** 123: 1235-1246.

Oh E, Yamaguchi S, Kamiya Y, Bae G, Chung WI, Choi G (2006) Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellin in Arabidopsis. **Plant Journal** 47: 124-39.

Omidvar V, Fellner M (2015) DNA Methylation and Transcriptomic Changes in Response to Different Lights and Stresses in 7B-1 Male-Sterile Tomato. **Plos One** 10: e0121864.

Oracz K, Stawska M (2016) Cellular recycling of proteins in seed dormancy alleviation and germination. **Frontiers in Plant Science** 7:1128.

Perea-Domínguez XP, Hernández-Gastelum LZ, Olivas-Olguin HR, Espinosa-Alonso LG, Valdez-Morales M, Medina-Godoy S (2018) Phenolic composition of tomato varieties and an industrial tomato by-product: free, conjugated and bound phenolics and antioxidant activity. **Journal of food science and technology** 55: 3453-3461.

Perrotta G, Ninu L, Flamma F, Weller JL, Kendrick RE, Nebuloso E, Giuliano G (2000) Tomato contains homologues of Arabidopsis cryptochromes 1 and 2. **Plant molecular biology** 42: 765-773.

Piskurewicz U, Turečková V, Lacombe E, Lopez-Molina L (2009) Far-red light inhibits germination through DELLA-dependent stimulation of ABA synthesis and ABI3 activity. **The EMBO Journal** 28: 2259-2271.

Piterkova J, Luhova L, Hofman J, Tureckova V, Novak O, Petrivalsky M, Fellner M (2012) Nitric oxide is involved in light-specific responses of tomato during germination under normal and osmotic stress conditions. **Annals of Botany** 110: 767-76.

Poppe C, Sweere U, Drumm-Herrel, H, Schäfer E (1998) The blue light receptor cryptochrome 1 can act independently of phytochrome A and B in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal** 16: 465-471.

Quail PH (2002) Phytochrome photosensory signalling networks. **Nature reviews Molecular cell biology** 3: 85-93.

Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ, Blanchard-Gros R, Bigot S, Martinez JP, Lutts S (2019) Tomato fruit development and metabolism. **Frontiers in plant Science** 10: 1554.

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Raij BV, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani MC (1996) **Recommendations of fertilization and liming for the State of São Paulo**, Boletim Técnico 100, 2nd ed. Campinas: IAC, p. 285.

Raij BV (2001) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas**: Instituto Agrônomo de Campinas.

Rajasheker G, Jawahar G, Jalaja N, Kumar SA, Kumari PH, Punita DL, Kishor PBK (2019) **Role and regulation of osmolytes and ABA interaction in salt and drought stress tolerance**. In Plant Signaling Molecules. Woodhead Publishing. p. 417–436.

Ravindran P, Verma V, Stamm P, Kumar PP (2017) A novel RGL2–DOF6 complex contributes to primary seed dormancy in *Arabidopsis thaliana* by regulating a GATA transcription factor. **Molecular plant** 10: 1307-1320.

Reid JSG, Meier H (1973) Enzymic activities and galactomannan mobilisation in germinating seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L. Leguminosae). **Planta** 112: 301-308.

Ren Y, Bewley JD, Wang X (2008) Protein and gene expression patterns of endo- β -mannanase following germination of rice. **Seed Science Research** 18: 139-149.

Rodríguez GR, Muños S, Anderson C, Sim SC, Michel A, Causse M, van der Knaap E (2011) Distribution of *SUN*, *OVATE*, *LC*, and *FAS* in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. **Plant physiology** 156: 275-285.

Sánchez RA, Miguel L (1997) Phytochrome promotion of mannan-degrading enzyme activities in the micropylar endosperm of *Datura ferox* seeds requires the presence of the embryo and gibberellin synthesis. **Seed Science Research** 7: 27-34.

Sánchez-Montesino R, Bouza-Morcillo L, Marquez J, Ghita M, Duran-Nebreda S, Gómez L, Oñate-Sánchez L (2019) A regulatory module controlling GA-mediated endosperm cell expansion is critical for seed germination in Arabidopsis. **Molecular plant** 12: 71-85.

Seo M, Hanada A, Kuwahara A, Endo A, Okamoto M, Yamauchi Y, North H, Marion-Poll A, Sun TP, Koshiba T, Kamiya Y, Yamaguchi S, Nambara E (2006) Regulation of hormone metabolism in Arabidopsis seeds: phytochrome regulation of abscisic acid metabolism and abscisic acid regulation of gibberellin metabolism. **The Plant Journal** 48: 354-366.

Seo M, Nambara E, Choi G, Yamaguchi S (2009) Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. **Plant molecular biology** 69: 463.

Silva LJD, Medeiros ADD, Oliveira AMS (2019) SeedCalc, uma nova ferramenta automatizada do software R para processamento de dados de germinação e comprimento de plântula. **Journal of Seed Science** 41: 250-257.

Simlat M, Slezak P, Mos M, Warchol M, Skrzypek E, Ptak A (2016) The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Scientia Horticulturae** 211: 295-304.

Stacciarini-Seraphin E, Freschi L (2019) Ácido Abscísico. IN.:Kerbaux GB (3 Eds.) **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.239-252.

Srivastava, L. M. (2002a). Absciscic Acid. IN: Srivastava LM **Plant Growth and Development**, New York: Academic Press, p. 217-232.

Srivastava, L. M. (2002b). Gibberellins. IN: Srivastava LM **Plant Growth and Development**, New York: Academic Press, p. 172-181.

Stawska M, Oracz K (2019) PhyB and HY5 are involved in the blue light-mediated alleviation of dormancy of Arabidopsis seeds possibly via the modulation of expression of genes related to light, GA, and ABA. **International journal of molecular sciences** 20: 5882.

Still DW, Bradford KJ (1997) Endo- β -mannanase activity from individual tomato endosperm caps and radicle tips in relation to germination rates. **Plant Physiology** 113: 21-29.

Su Y, Liang W, Liu Z, Wang Y, Zhao Y, Ijaz B, Hua J (2017) Overexpression of *GhDof1* improved salt and cold tolerance and seed oil content in *Gossypium hirsutum*. **Journal of Plant Physiology** 218: 222-234.

Sullivan, JA, Deng X W (2003) From seed to seed: the role of photoreceptors in Arabidopsis development. **Developmental biology** 260: 289-297.

Tan-Wilson AL, Wilson KA (2012) Mobilization of seed protein reserves. **Physiologia Plantarum** 145: 140-153.

Thomas SG, Rieu I, Steber CM (2005) Gibberellin metabolism and signaling. **Vitamins & hormones** 72: 289-338.

Thompson AJ, Thorne ET, Burbidge A, Jackson AC, Sharp RE, Taylor IB (2004) Complementation of *notabilis*, an abscisic acid-deficient mutant of tomato: importance of sequence context and utility of partial complementation. **Plant, Cell & Environment** 27: 459-471.

Tomato Genome Consortium X (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature** 485: 635.

Towers IR, Merritt DJ, Erickson TE, Mayfield MM, Dwyer JM (2022) Variable seed bed microsite conditions and light influence germination in Australian winter annuals. **Oecologia** 1-11.

Tuan PA, Kumar R, Rehal PK, Toora PK, Ayele BT (2018) Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. **Frontiers in Plant Science** 9: 668.

Vishal B, Kumar PP (2018) Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. **Frontiers in Plant Science** 9: 838.

Vogel IN, Macedo AF (2011) Influence of IAA, TDZ, and light quality on asymbiotic germination, protocorm formation, and plantlet development of *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi., a medicinal orchid. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** 104: 147-55.

Vogelsang-O'Dwyer M, Petersen IL, Joehnke MS, Sørensen JC, Bez J, Detzel A, Zannini E (2020) Comparison of Faba bean protein ingredients produced using dry fractionation and isoelectric precipitation: Techno-functional, nutritional and environmental performance. **Foods** 9: 322.

Wang A, Wang X, Ren Y, Gong X, Bewley JD (2005) Endo- β -mannanase and β -mannosidase activities in rice grains during and following germination, and the influence of gibberellin and abscisic acid. **Seed Science Research** 15: 219-227.

Wang J, Du XL, Pan WS, Wang XJ, Wu WJ (2015) Photoactivation of the cryptochrome/photolyase superfamily. **Journal of Photochemistry and Photobiology C-Photochemistry Reviews** 22: 84-102.

Wang Q, Yu F, Xie Q (2020) Balancing growth and adaptation to stress: Crosstalk between brassinosteroid and abscisic acid signaling. **Plant, Cell & Environment** 43: 2325-2335.

Wang Q, Zuo Z, Wang X, Liu Q, Gu L, Oka Y, Lin C (2018) Beyond the photocycle-how cryptochromes regulate photoresponses in plants?. **Current opinion in plant biology** 45:120-126.

Wang YP, Li L, Ye TT, Zhao SJ, Liu Z, Feng QY, Wu Y (2011) Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of *Arabidopsis* by downregulating *ABI5* expression. **Plant Journal** 68: 249-61.

Weller JL, Perrotta G, Schreuder ME, Van Tuinen A, Koornneef M, Giuliano G, Kendrick RE (2001) Genetic dissection of blue-light sensing in tomato using mutants deficient in cryptochrome 1 and phytochromes A, B1 and B2. **The Plant Journal** 25: 427-440.

Wilson RL, Bakshi A, Binder BM (2014) Loss of the ETR1 ethylene receptor reduces the inhibitory effect of far-red light and darkness on seed germination of *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in plant science** 5: 433.

Xia QQ, Ando M, Seiwa K (2016) Interaction of seed size with light quality and temperature regimes as germination cues in 10 temperate pioneer tree species. **Functional Ecology** 30: 866-74.

Xu P, Xiang Y, Zhu H, Xu H, Zhang Z, Zhang C, Zhang L, Ma Z (2009) Wheat cryptochromes: subcellular localization and involvement in photomorphogenesis and osmotic stress responses. **Plant Physiology** 149: 760-774.

Yabuta T (1938) On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth. **J. Agric. Chem. Soc. Japan** 14: 1526.

Yamaguchi S (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. **Annu. Rev. Plant Biol** 59: 225-251.

Yamaguchi S, Kamiya Y (2000) Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. **Plant and cell physiology** 41: 251-257.

Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1993) Characterization of the expression of a desiccation-responsive rd29 gene of *Arabidopsis thaliana* and analysis of its promoter in transgenic plants. **Molecular and General Genetics MGG** 236: 331-340.

Yan A, Chen Z (2017) The pivotal role of abscisic acid signaling during transition from seed maturation to germination. **Plant Cell Reports** 36: 689-703.

Yan A, Chen Z (2020) The control of seed dormancy and germination by temperature, light and nitrate. **The Botanical Review** 86: 39-75.

Yang L, Jiang Z, Liu S, Lin R (2020a) Interplay between REVEILLE1 and RGA-LIKE2 regulates seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. **New Phytologist** 225: 1593-1605.

Yang L, Liu S, Lin R (2020b) The role of light in regulating seed dormancy and germination. **Journal of Integrative Plant Biology** 62: 1310-1326.

Yang R, Chu Z, Zhang H, Li Y, Wang J, Li D, Guo YD (2015) The mechanism underlying fast germination of tomato cultivar LA2711. **Plant Science** 238: 241-250.

Yang Z, Liu B, Su J, Liao J, Lin C, Oka Y (2017) Cryptochromes orchestrate transcription regulation of diverse blue light responses in plants. **Photochemistry and photobiology** 93: 112-127.

Zhang Y, Kaiser E, Zhang Y, Yang Q, Li T (2019) Red/blue light ratio strongly affects steady-state photosynthesis, but hardly affects photosynthetic induction in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Physiologia Plantarum** 167: 144-158.

Zhao M, Zhang H, Yan H, Qiu L, Baskin CC (2018) Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species. **Frontiers in plant science** 9: 234.

Zhong CM, Xu H, Ye ST, Wang SY, Li LF, Zhang SC, Wang XJ (2015) Gibberellic Acid-Stimulated *Arabidopsis*6 Serves as an Integrator of Gibberellin, Abscisic Acid, and Glucose Signaling during Seed Germination in *Arabidopsis* (1 OPEN). **Plant Physiology** 169: 2288-303.

Zhou R, Xu L, Zhao L, Wang Y, Zhao T (2018) Genome-wide identification of circRNAs involved in tomato fruit coloration. **Biochemical and biophysical research communications** 499: 466-469.

Zhu Z, Kang X, Lor VS, Weiss D, Olszewski N (2019) Characterization of a semidominant dwarfing PROCERA allele identified in a screen for CRISPR/Cas9-induced suppressors of loss-of-function alleles. **Plant Biotechnology Journal** 17: 319.

APÊNDICES

Figura 1. Halos formados pela atividade da enzima endo- β -mananase em sementes dos genótipos Moneymaker (MM) e *cry1a* às 36 h, germinadas em água, 5 μmol de GA_3 ou 0,25 μmol de ABA sob intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul. Os pontos crescentes na curva representam 1, 15, 30, 45, 60 e 75 pmol de endo- β -mananase comercial (Megazyme).

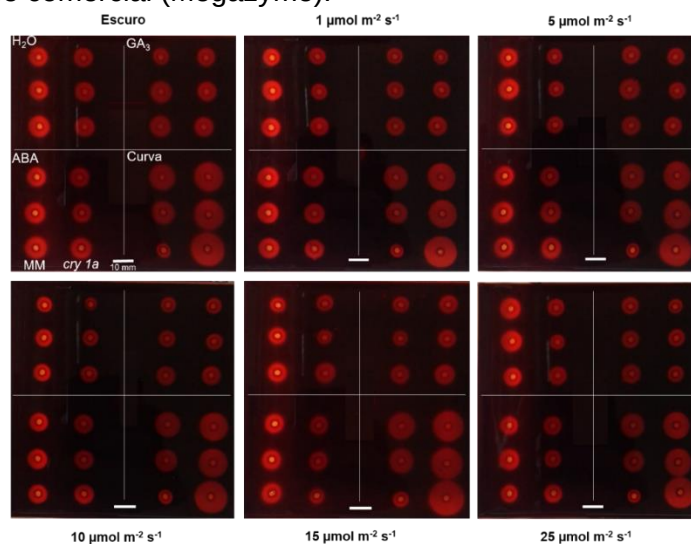


Figura 2. Halos formados pela atividade da enzima endo- β -mananase em sementes dos genótipos Moneymaker (MM) e *cry1a* às 72 h, germinadas em água, 5 μmol de GA_3 ou 0.25 μmol de ABA sob intensidade de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul. Os pontos crescentes na curva representam 1, 15, 30, 45, 60 e 75 pmol de endo- β -mananase comercial (Megazyme).

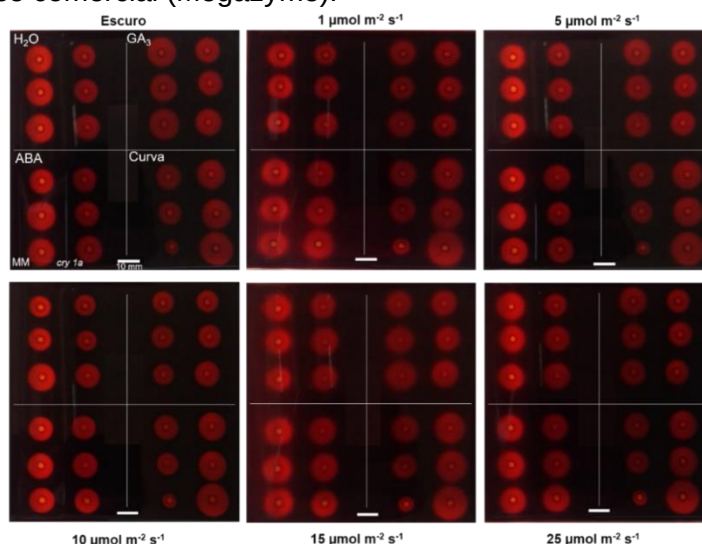


Figura 3. Halos formados pela atividade da enzima endo- β -mananase em sementes dos genótipos Micro-Tom (MT), *procera* (*pro*) e *notabilis* (*not*) às 36 h. Sementes germinadas em água, sob intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul. Os pontos crescentes na curva representam 1, 15, 30, 45, 60 e 75 pmol de endo- β -mananase comercial (Megazyme).

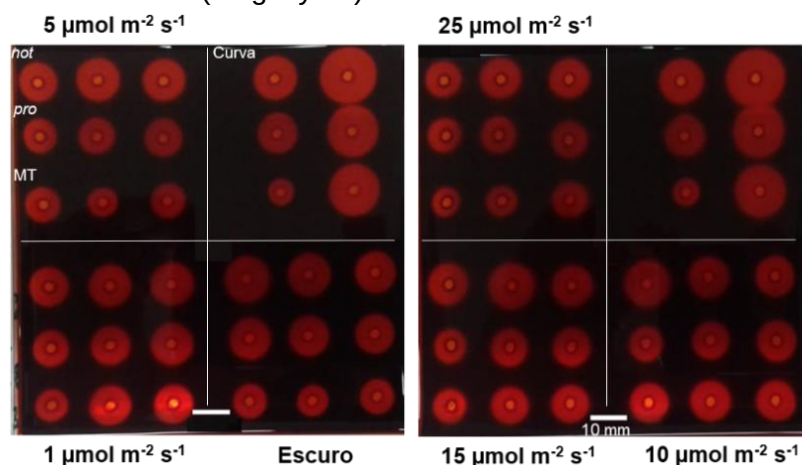


Figura 4. Halos formados pela atividade da enzima endo- β -mananase em sementes dos genótipos Micro-Tom (MT), *procera* (*pro*) e *notabilis* (*not*) às 72 h. Sementes germinadas em água, sob intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul. Os pontos crescentes na curva representam 1, 15, 30, 45, 60 e 75 pmol de endo- β -mananase comercial (Megazyme).

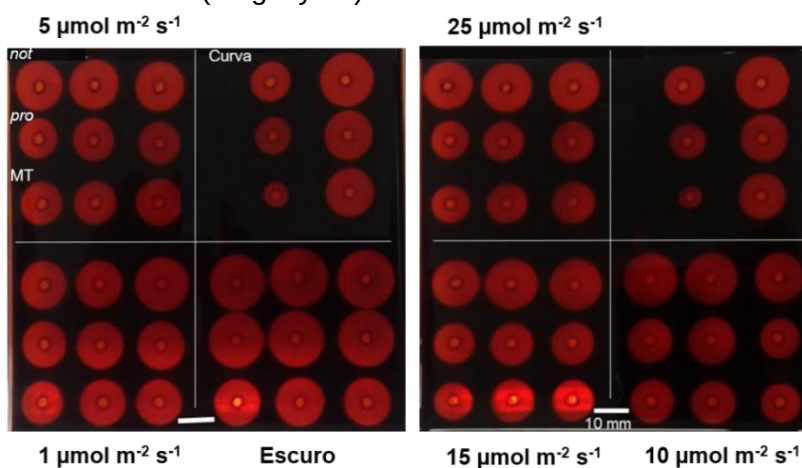


Tabela 1. Sequencias de *primers* usados para qPCR.

Gene	Pares de <i>primers</i> ¹	Locus ²
<i>SIGA20ox1</i>	F:5' - CTCATTGTGATCCAACATCATTAAACA - 3' R:5' - CCATAAATGTGTGCGCTATATTAACC - 3'	Solyc03g006880
<i>SIGA20ox2</i>	F:5' - AGGAAGAGAGGAGATCATTGT - 3' R:5' - GAGAGTGCTCATCGCATTAC - 3'	Solyc06g035530
<i>SIGA20ox3</i>	F:5' - TTGTCCCAAGAAAGATAAGGTGATT - 3' R:5' - GTTTGTAGGGTGTTCATATCAGCTCTATAT - 3'	Solyc11g093980
<i>SIGA3ox2</i>	F:5' - CGGGTTGTACCCGAGTGTTTC - 3' R:5' - CCCATATAGATAGGCCACTGAAAGA - 3'	Solyc03g119910
<i>SIGA20ox4</i>	F:5' - CAACTGGTTTTCTGTTCCATCTG - 3' R:5' - AACCTTCCATTTCGTCATCACCT - 3'	Solyc07g061720
<i>SIGA20ox5</i>	F:5' - GATTGGATTTGGAGAACATACCG - 3' R:5' - CAACACCCTATGCTTCACACTCTT - 3'	Solyc07g061730
<i>SINCED1</i>	F:5' - GATTGTTTCTGTTTCCACCTCTG - 3' R:5' - ACACTCTTTAGCCCTTCATCAC - 3'	Solyc07g056570
<i>SINCED2</i>	F:5' - GGCATAACCTTCCCGTTACAG - 3' R:5' - AAAGATGATGACCGGCAACC - 3'	Solyc08g016720
<i>SICRY1A</i>	F:5' - GTCTTGGAACCTCCCTTATTA - 3' R:5' - CGACCTTCATCGTCATTAAC - 3'	Solyc04g074180
(constitutivo)		
<i>SI-CAC</i>	F:5' - CCTCCGTTGTGATGTAAGTGG - 3' R:5' - ATTGGTGGAAAGTAACATCATCG - 3'	Solyc08g006960
<i>SI-EXPRESSED</i>	F:5' - GCTAAGAACGCTGGACCTAATG - 3' R:5' - TGGGTGTGCCTTTCTGAATG - 3'	Solyc07g025390

¹F: forward, R: reverse. ²Locus de acordo com o banco de dados da "Sol Genomics Network" (<http://solgenomics.net/>).

Tabela 2. Germinação de sementes de tomateiro, cultivar Micro-Tom (MT), *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*). As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (0) ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças para o mesmo genótipo nas diferentes intensidades de LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$). A taxa de germinação é mostrada a partir de 36 h, início da germinação.

Tempo (h)	Genótipos	----- Intensidade de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36	MT	00,00 $\pm$ 0,00 a	00,00 $\pm$ 0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 a	00,00 $\pm$ 0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 a
	<i>not</i>	58,33 $\pm$ 6,00 a	11,66 $\pm$ 1,66 b	16,66 $\pm$ 1,66 b	11,66 $\pm$ 3,33 b	11,66 $\pm$ 1,66 b	15,00 $\pm$ 2,88 b
	<i>pro</i>	53,33 $\pm$ 3,33 a	8,33 $\pm$ 3,33 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	5,00 $\pm$ 2,88 b
48	MT	40,00 $\pm$ 2,88 a	5,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	5,00 $\pm$ 2,88 b
	<i>not</i>	83,33 $\pm$ 3,33 a	65,00 $\pm$ 2,88 b	63,33 $\pm$ 1,66 b	51,66 $\pm$ 10,92 b	33,33 $\pm$ 4,40 c	50,00 $\pm$ 7,63 bc
	<i>pro</i>	91,66 $\pm$ 3,33 a	46,66 $\pm$ 1,66 b	21,66 $\pm$ 1,66 c	21,66 $\pm$ 4,40 c	13,33 $\pm$ 6,00 c	10,00 $\pm$ 2,88 c
60	MT	70,00 $\pm$ 13,22 a	23,33 $\pm$ 4,40 b	23,33 $\pm$ 1,66 b	16,66 $\pm$ 4,40 b	16,66 $\pm$ 7,26 b	11,66 $\pm$ 1,66 b
	<i>not</i>	95,00 $\pm$ 2,88 a	78,33 $\pm$ 1,66 ab	71,66 $\pm$ 6,66 ab	78,33 $\pm$ 1,66 ab	75,00 $\pm$ 2,88 ab	63,33 $\pm$ 1,66 b
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	81,66 $\pm$ 6,00 ab	58,33 $\pm$ 1,66 cd	63,33 $\pm$ 3,33 bc	40,00 $\pm$ 5,00 d	38,33 $\pm$ 1,66 d
72	MT	85,00 $\pm$ 5,00 a	50 $\pm$ 7,63 b	46,66 $\pm$ 6,00 bc	38,33 $\pm$ 4,40 bc	30,00 $\pm$ 10,40 bc	28,33 $\pm$ 3,33 c
	<i>not</i>	96,66 $\pm$ 3,33 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	90,00 $\pm$ 5,00 a	88,33 $\pm$ 1,66 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	80,00 $\pm$ 5,00 a
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	85,00 $\pm$ 2,88 ab	90,00 $\pm$ 5,00 a	65,00 $\pm$ 7,63 bc	55,00 $\pm$ 5,00 c
84	MT	88,33 $\pm$ 1,66 a	86,66 $\pm$ 4,40 a	65,00 $\pm$ 7,63 b	63,33 $\pm$ 8,33 b	61,66 $\pm$ 6,00 b	63,33 $\pm$ 7,26 b
	<i>not</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	96,66 $\pm$ 3,33 a	96,66 $\pm$ 3,33 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	91,66 $\pm$ 4,40 a
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	96,66 $\pm$ 3,33 a	83,33 $\pm$ 4,40 ab	71,66 $\pm$ 3,33 b
96	MT	90,00 $\pm$ 2,88 a	88,33 $\pm$ 3,33 ab	70,00 $\pm$ 8,66 b	76,66 $\pm$ 7,26 ab	75,00 $\pm$ 2,88 ab	80,00 $\pm$ 7,63 ab
	<i>not</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	93,33 $\pm$ 4,40 a
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 6,00 ab	76,66 $\pm$ 3,33 b
108	MT	93,33 $\pm$ 3,33 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	86,66 $\pm$ 6,00 a	83,33 $\pm$ 7,26 a	88,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 1,66 a
	<i>not</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	95,00 $\pm$ 2,88 a
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	93,33 $\pm$ 6,66 a
120	MT	95,00 $\pm$ 2,88 a	93,33 $\pm$ 3,33 a	86,66 $\pm$ 6,00 a	85,00 $\pm$ 5,77 a	88,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 1,66 a
	<i>not</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	93,33 $\pm$ 4,40 a	95,00 $\pm$ 2,88 a
	<i>pro</i>	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	95,00 $\pm$ 5,66 a

Tabela 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para 50 % de germinação (T50) em sementes de tomateiro Micro-Tom (MT), *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*). As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0) ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades, asteriscos indicam diferença entre os mutantes e o cultivar MT em cada intensidade de LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

		----- Intensidade da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
Variável	Genótipos	0	1	5	10	15	25
IVG	MT	7,45 $\pm$ 0,29 a	5,61 $\pm$ 0,24 b	4,94 $\pm$ 0,27 b	4,80 $\pm$ 0,33 b	4,78 $\pm$ 0,12 b	5,10 $\pm$ 0,16 b
	<i>not</i>	9,38 $\pm$ 0,14 a*	8,33 $\pm$ 0,09 ab*	8,59 $\pm$ 0,08 abc*	8,05 $\pm$ 0,07 bcd*	7,33 $\pm$ 0,25 d*	7,73 $\pm$ 0,46 cd*
	<i>pro</i>	9,72 $\pm$ 0,11 a*	8,11 $\pm$ 0,12 b*	7,12 $\pm$ 0,06 bc*	7,20 $\pm$ 0,08 bc*	6,44 $\pm$ 0,04 cd*	5,81 $\pm$ 0,35 d*
T50	MT	50,04 $\pm$ 0,79 b	70,37 $\pm$ 2,28 a	71,93 $\pm$ 4,36 a	73,95 $\pm$ 2,09 a	76,10 $\pm$ 4,35 a	78,33 $\pm$ 1,68 a
	<i>not</i>	33,73 $\pm$ 0,67 b*	44,65 $\pm$ 0,56 a*	44,57 $\pm$ 0,39 a*	45,71 $\pm$ 0,91 a*	51,61 $\pm$ 1,48 a*	47,80 $\pm$ 2,19 a*
	<i>pro</i>	34,66 $\pm$ 0,33 d*	49,86 $\pm$ 0,30 c*	57,33 $\pm$ 0,33 abc*	56,11 $\pm$ 1,05 bc*	64,91 $\pm$ 0,71 ab*	63,90 $\pm$ 0,51 ab*

Tabela 4. Atividade da endo- β -mannanase em sementes de tomateiro Micro-Tom (MT), *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*). As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades de LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	MT	19,30 $\pm$ 1,95 bc	51,74 $\pm$ 4,50 a	8,25 $\pm$ 0,92 c	28,91 $\pm$ 0,41 b	15,37 $\pm$ 2,13 bc	10,19 $\pm$ 1,95 c
	<i>not</i>	53,74 $\pm$ 6,22 a	49,46 $\pm$ 9,89 a	17,11 $\pm$ 1,51 b	31,43 $\pm$ 4,42 b	21,18 $\pm$ 2,26 b	16,77 $\pm$ 1,21 b
	<i>pro</i>	72,35 $\pm$ 4,09 a	50,45 $\pm$ 7,36 b	12,71 $\pm$ 1,53 c	26,21 $\pm$ 3,46 c	21,95 $\pm$ 2,34 c	14,21 $\pm$ 1,07 c
72 h	MT	41,82 $\pm$ 1,73 a	41,75 $\pm$ 5,20 a	43,40 $\pm$ 1,53 a	33,95 $\pm$ 3,00 a	36,83 $\pm$ 4,89 a	27,69 $\pm$ 2,06 a
	<i>not</i>	55,74 $\pm$ 2,18 a	37,33 $\pm$ 3,56 ab	33,47 $\pm$ 2,72 b	39,23 $\pm$ 6,84 ab	35,22 $\pm$ 3,22 b	33,18 $\pm$ 2,07 b
	<i>pro</i>	74,23 $\pm$ 4,03 a	48,03 $\pm$ 5,43 b	48,20 $\pm$ 7,21 b	47,25 $\pm$ 11,57 bc	37,18 $\pm$ 3,45 bc	27,38 $\pm$ 3,73 c

Tabela 5. Atividade da β -mannosidase em sementes de tomateiro Micro-Tom (MT), *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*). As sementes foram germinadas em papel umedecidos com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	MT	162,30 $\pm$ 3,48 a	151,95 $\pm$ 2,83 a	46,01 $\pm$ 0,13 b	46,97 $\pm$ 1,49 b	43,42 $\pm$ 2,25 bc	34,88 $\pm$ 0,67 c
	<i>not</i>	166,54 $\pm$ 4,15 b	195,28 $\pm$ 6,21 a	51,37 $\pm$ 1,58 d	79,16 $\pm$ 0,67 c	55,69 $\pm$ 1,22 d	62,01 $\pm$ 1,01 d
	<i>pro</i>	197,05 $\pm$ 0,76 a	175,68 $\pm$ 4,75 b	48,24 $\pm$ 0,92 de	74,60 $\pm$ 1,79 c	58,44 $\pm$ 4, d	45,55 $\pm$ 0,97 e
72 h	MT	111,81 $\pm$ 1,80 bc	130,02 $\pm$ 1,21 ab	129,70 $\pm$ 1,44 ab	107,82 $\pm$ 5,06 c	143,81 $\pm$ 1,95 a	107,05 $\pm$ 5,38 c
	<i>not</i>	108,74 $\pm$ 3,74 a	97,86 $\pm$ 4,75 a	96,74 $\pm$ 8,79 a	109,82 $\pm$ 8,21 a	100,67 $\pm$ 10,70 a	95,68 $\pm$ 2,39 a
	<i>pro</i>	88,28 $\pm$ 5,02 d	123,99 $\pm$ 2,12 c	152,38 $\pm$ 1,92 b	1,66,47 $\pm$ 2,03 ab	175,17 $\pm$ 4,62 a	183,07 $\pm$ 0,57 a

Tabela 6. Atividade da α -galactosidase em sementes de tomateiro Micro-Tom (MT), *notabilis* (*not*) e *procera* (*pro*). As sementes foram germinadas em papel umedecidos com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	MT	223,86 $\pm$ 0,27 b	295,48 $\pm$ 4,18 a	75,65 $\pm$ 4,96 d	64,87 $\pm$ 2,82 d	68,36 $\pm$ 1,28 d	102,05 $\pm$ 1,71 c
	<i>not</i>	256,52 $\pm$ 8,25 a	236,40 $\pm$ 0,27 a	98,20 $\pm$ 2,83 c	70,25 $\pm$ 10,67 d	132,98 $\pm$ 5,43 b	99,93 $\pm$ 0,10 c
	<i>pro</i>	313,59 $\pm$ 9,65 a	289,53 $\pm$ 13,28 a	162,46 $\pm$ 1,11 b	80,66 $\pm$ 10,91 c	164,62 $\pm$ 0,94 b	157,37 $\pm$ 4,74 b
72 h	MT	200,63 $\pm$ 0,29 c	200,36 $\pm$ 10,54 c	215,90 $\pm$ 7,33 c	312,81 $\pm$ 5,64 b	506,91 $\pm$ 0,37 a	317,14 $\pm$ 6,05 b
	<i>not</i>	134,53 $\pm$ 6,69 a	161,64 $\pm$ 0,29 a	133,28 $\pm$ 0,21 a	143,32 $\pm$ 5,95 a	149,99 $\pm$ 3,44 a	131,58 $\pm$ 1,75 a
	<i>pro</i>	221,80 $\pm$ 11,08 d	240,14 $\pm$ 0,26 c	358,98 $\pm$ 18,23 bc	396,33 $\pm$ 24,27 ab	431,39 $\pm$ 2,54 a	331,04 $\pm$ 12,77 c

Figura 5. Efeito de diferentes intensidades da LA na germinação (A, C) e atividade da GUS (B, D) em sementes das cultivares de tomateiros transgênicos, MT-*pGA2Ox::GUS* e MT-*pRD29B::GUS*. As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecidos com água, no escuro, ou sob 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul contínua. Os dados são das médias $\pm$ SE de três réplicas com 40 sementes.

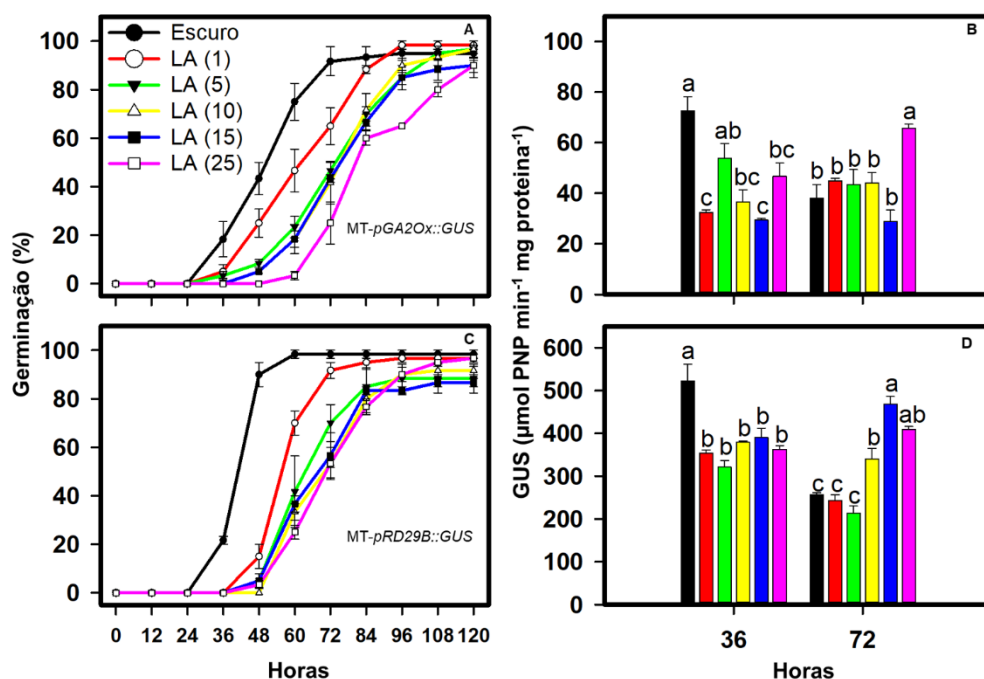


Figura 6. Padrão de coloração GUS em sementes em germinação dos cultivares transgênicos MT-*pGA2Ox::GUS* e MT- *pRD29B::GUS*. Barra = 2 mm.

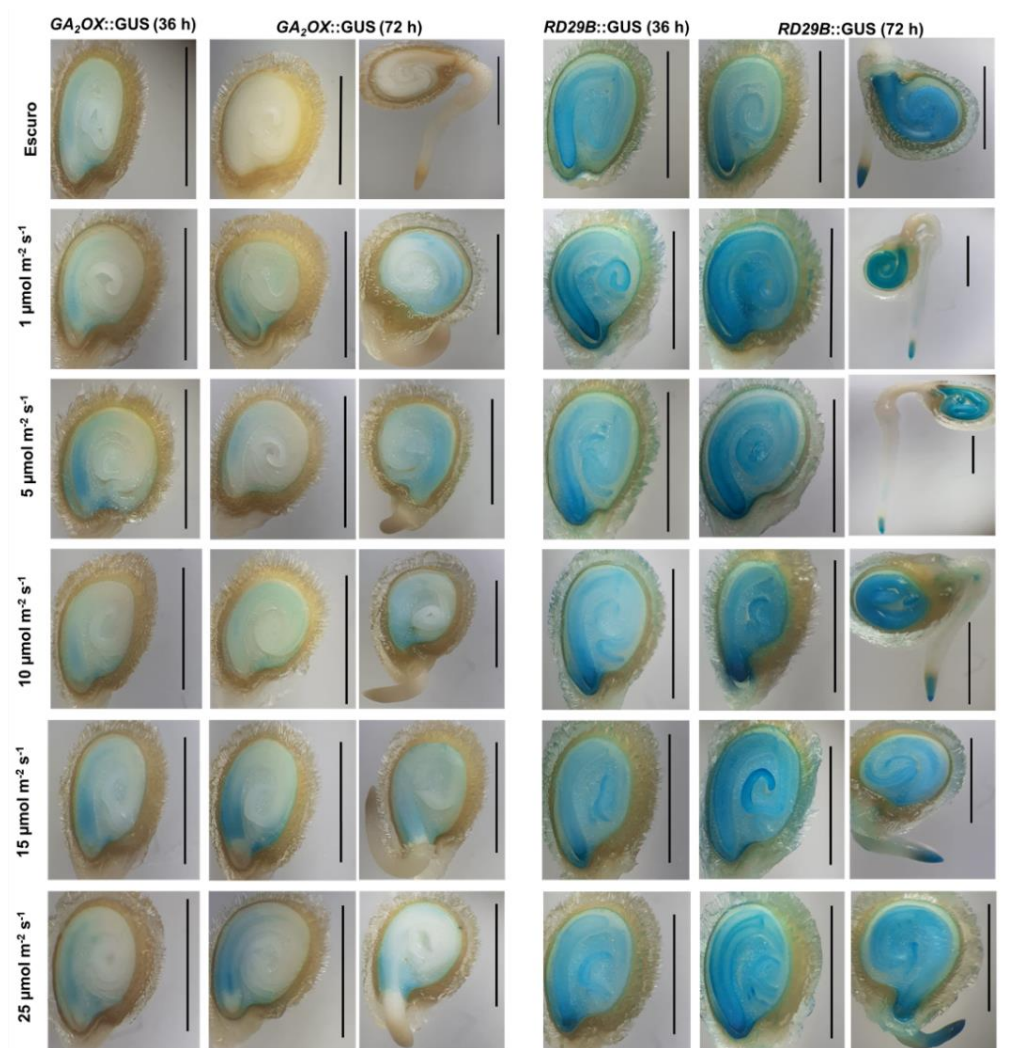


Tabela 7. Porcentagem de germinação em sementes de tomateiro, cultivar transgênico MT-*pRD29B::GUS* e MT-*pGA2OX::GUS*. As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua sob as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. As letras minúsculas comparam e indicam diferenças entre as médias de porcentagem de germinação em cada tempo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$). A taxa de germinação é mostrada a partir de 36 h, início da germinação.

Tempo (h)	Genótipos	----- Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	21,66 $\pm$ 1,66 a	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	5,00 $\pm$ 0,00 a	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b
48	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	90,00 $\pm$ 5,00 a	15,00 $\pm$ 5,00 b	5,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	5,00 $\pm$ 2,88 b	3,33 $\pm$ 1,66 b
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	85,00 $\pm$ 5,77 a	10,00 $\pm$ 0,00 b	83,33 $\pm$ 1,66 b	6,66 $\pm$ 1,66 b	5,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 b
60	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	70,00 $\pm$ 3,81ab	41,66 $\pm$ 14,81 bc	33,33 $\pm$ 3,33 c	36,66 $\pm$ 3,33 c	25,00 $\pm$ 2,88 c
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	93,33 $\pm$ 3,33 a	48,33 $\pm$ 1,66 b	38,33 $\pm$ 6,00 b	25,00 $\pm$ 7,63 bc	31,66 $\pm$ 6,66 bc	8,33 $\pm$ 1,66 c
72	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 3,33 ab	70,00 $\pm$ 7,63 bc	53,33 $\pm$ 6,66 c	56,66 $\pm$ 9,27 c	53,33 $\pm$ 1,66 c
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	95,00 $\pm$ 2,88 a	63,33 $\pm$ 3,33 c	83,33 $\pm$ 1,66 ab	51,66 $\pm$ 4,40 cd	66,66 $\pm$ 4,40 bc	33,33 $\pm$ 6,00 d
84	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 ab	85,00 $\pm$ 7,63 ab	80,00 $\pm$ 5,77 ab	83,33 $\pm$ 1,66 ab	76,66 $\pm$ 3,33 b
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	95,00 $\pm$ 2,88 a	85,00 $\pm$ 0,00 abc	91,66 $\pm$ 1,66 a	70,00 $\pm$ 2,88 c	88,33 $\pm$ 7,26 ab	71,66 $\pm$ 1,66 bc
96	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	96,66 $\pm$ 1,66 a	88,33 $\pm$ 6,00 a	90,00 $\pm$ 2,88 a	83,33 $\pm$ 1,66 a	90,00 $\pm$ 2,88 a
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	96,66 $\pm$ 1,66 a	90,00 $\pm$ 2,88 a	93,33 $\pm$ 1,66 a	85,00 $\pm$ 0,00 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	86,66 $\pm$ 4,40 a
108	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	96,66 $\pm$ 1,66 a	88,33 $\pm$ 6,00 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	86,66 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 0,00 a
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	90,00 $\pm$ 2,88 a	95,00 $\pm$ 0,00 a	88,33 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	90,00 $\pm$ 2,88 a
120	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	96,66 $\pm$ 1,66 a	88,33 $\pm$ 6,00 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	86,66 $\pm$ 1,66 a	96,66 $\pm$ 1,66 a
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	98,33 $\pm$ 1,66 a	90,66 $\pm$ 2,88 a	95,00 $\pm$ 0,00 a	88,33 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	91,66 $\pm$ 4,40 a

Tabela 8. Índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para 50 % de germinação (T50) em sementes de tomateiro transgênicos MT-*pRD29B::GUS* e MT-*pGA2OX::GUS*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua sob as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Variável	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
IVG	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	9,55 $\pm$ 0,24 a	6,86 $\pm$ 0,27 b	5,75 $\pm$ 0,41 bc	5,45 $\pm$ 0,16 c	5,41 $\pm$ 0,14 c	5,76 $\pm$ 0,12 bc
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	9,31 $\pm$ 0,26 a	5,88 $\pm$ 0,10 bc	6,40 $\pm$ 0,03 b	5,46 $\pm$ 0,11 cd	6,02 $\pm$ 0,20 bc	5,08 $\pm$ 0,18 d
T50	MT- <i>pRD29B::GUS</i>	29,50 $\pm$ 0,36 c	44,22 $\pm$ 2,37 b	49,57 $\pm$ 0,43 ab	51,35 $\pm$ 0,25 a	48,70 $\pm$ 1,32 ab	51,62 $\pm$ 1,06 a
	MT- <i>pGA2OX::GUS</i>	36,72 $\pm$ 0,06 c	46,80 $\pm$ 0,34 b	48,20 $\pm$ 0,80 b	51,04 $\pm$ 2,82 b	50,30 $\pm$ 0,55 b	60,30 $\pm$ 1,21 a

Tabela 9. Porcentagem de germinação em sementes de tomateiro, Moneymaker (WT) e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As avaliações foram realizadas a cada 12 h, os valores representam a média $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. As letras minúsculas comparam e indicam diferenças entre as médias de porcentagem de germinação em cada tempo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$). A taxa de germinação é mostrada a partir de 48 h, início da germinação.

Tempo (h)	Genótipos	----- Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
48	WT	30,83 $\pm$ 2,20 a	6,66 $\pm$ 0,83 bc	10,00 $\pm$ 1,44 b	8,33 $\pm$ 0,83 bc	6,66 $\pm$ 0,83 bc	4,16 $\pm$ 0,83 c
	<i>cry1a</i>	34,16 $\pm$ 2,20 a	7,50 $\pm$ 0,00 b	6,60 $\pm$ 0,83 b	0,00 $\pm$ 0,00 c	0,00 $\pm$ 0,00 c	6,66 $\pm$ 0,83 b
60	WT	72,50 $\pm$ 1,44 a	50,00 $\pm$ 3,81b	43,33 $\pm$ 2,20 b	40,83 $\pm$ 3,63 b	26,66 $\pm$ 2,20 c	22,50 $\pm$ 2,50 c
	<i>cry1a</i>	82,50 $\pm$ 5,77 a	30,83 $\pm$ 3,63 b	15,83 $\pm$ 1,66 c	13,33 $\pm$ 1,66 c	11,66 $\pm$ 3,63 c	15,00 $\pm$ 1,44 c
72	WT	80,83 $\pm$ 2,20 a	80,00 $\pm$ 2,50 a	74,16 $\pm$ 4,63 a	70,83 $\pm$ 6,00 ab	56,66 $\pm$ 2,20 b	55,83 $\pm$ 2,20 b
	<i>cry1a</i>	92,50 $\pm$ 1,44 a	54,16 $\pm$ 3,33 b	37,50 $\pm$ 2,50 c	31,66 $\pm$ 4,63 cd	20,83 $\pm$ 6,82 d	20,00 $\pm$ 0,00 d
84	WT	84,16 $\pm$ 3,63 a	91,66 $\pm$ 0,83 a	93,33 $\pm$ 2,20 a	91,66 $\pm$ 3,63 a	80,00 $\pm$ 1,44 a	76,66 $\pm$ 1,66 a
	<i>cry1a</i>	95,83 $\pm$ 0,83 a	74,16 $\pm$ 7,94 b	52,50 $\pm$ 1,44 c	52,50 $\pm$ 1,44 c	40,00 $\pm$ 8,66 c	36,66 $\pm$ 3,63 c
96	WT	85,00 $\pm$ 2,88 a	94,16 $\pm$ 0,83 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 0,83 a	88,33 $\pm$ 0,83 a	90,83 $\pm$ 3,00 a
	<i>cry1a</i>	95,83 $\pm$ 0,83 a	83,33 $\pm$ 6,66 ab	72,50 $\pm$ 5,00 bc	65,83 $\pm$ 1,44 cd	59,16 $\pm$ 7,12 cd	55,83 $\pm$ 3,63 d
108	WT	86,66 $\pm$ 2,20 b	94,16 $\pm$ 0,83 ab	98,33 $\pm$ 1,66 a	99,16 $\pm$ 0,83 a	95,83 $\pm$ 0,83 ab	95,00 $\pm$ 1,44 ab
	<i>cry1a</i>	95,83 $\pm$ 0,83 a	90,00 $\pm$ 2,50 ab	86,66 $\pm$ 3,33 abc	85,00 $\pm$ 1,44 bcd	75,83 $\pm$ 4,40 d	79,16 $\pm$ 3,63 cd
120	WT	87,50 $\pm$ 1,44 b	95,00 $\pm$ 0,00 ab	98,33 $\pm$ 1,66 a	99,16 $\pm$ 0,83 a	95,83 $\pm$ 0,83 ab	96,66 $\pm$ 0,83 a
	<i>cry1a</i>	95,83 $\pm$ 0,83 a	93,33 $\pm$ 2,20 ab	90,00 $\pm$ 3,81 ab	94,16 $\pm$ 0,83 a	90,00 $\pm$ 2,50 ab	85,00 $\pm$ 1,44 b

Tabela 10. Índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para 50 % de germinação (T50) em sementes de tomateiro Moneymaker (WT) e mutante *cry1a*. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. Letras diferentes indicam diferenças para o mesmo genótipo nas diferentes intensidades de luz azul, asteriscos indicam diferenças entre os genótipos na mesma intensidade da LA (Teste de Tukey, $P < 0.05$).

Variável	Genótipos	----- Intensidade de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
IVG	WT	5,51 $\pm$ 0,10 a	5,51 $\pm$ 0,09 a*	5,58 $\pm$ 0,10 a*	5,56 $\pm$ 0,12 a*	5,07 $\pm$ 0,06 a*	4,94 $\pm$ 0,08 a*
	<i>cry1a</i>	6,16 $\pm$ 0,10 a*	4,85 $\pm$ 0,23 b	4,25 $\pm$ 0,12 bc	4,14 $\pm$ 0,03 c	3,62 $\pm$ 0,32 c	3,78 $\pm$ 0,17 c
T50	WT	51,69 $\pm$ 0,78 d	59,30 $\pm$ 0,98 c	62,26 $\pm$ 0,68 bc	63,29 $\pm$ 0,91 abc	68,55 $\pm$ 0,60 ab	69,28 $\pm$ 0,72 a
	<i>cry1a</i>	51,53 $\pm$ 0,79 d	68,16 $\pm$ 1,25 c*	80,12 $\pm$ 0,74 b*	80,49 $\pm$ 1,41 b*	87,10 $\pm$ 3,95 a*	87,64 $\pm$ 1,73 a*

Tabela 11. Porcentagem de germinação em sementes de tomateiro, Moneymaker (WT) e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecido com GA₃, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As avaliações foram realizadas a cada 12 h, os valores representam a média $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. As letras minúsculas comparam e indicam diferenças entre as médias de porcentagem de germinação em cada tempo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey, $P < 0.05$). A taxa de germinação é mostrada a partir de 48 h, início da germinação.

Tempo (h)	Genótipos	----- Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
48	WT (GA ₃)	51,66 $\pm$ 1,66 a	5,00 $\pm$ 0,00 c	10,00 $\pm$ 0,00 bc	13,33 $\pm$ 3,33 b	10,00 $\pm$ 0,00 bc	5,00 $\pm$ 0,00 c
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	55,00 $\pm$ 2,88 a	5,00 $\pm$ 0,00 bc	5,00 $\pm$ 0,00 bc	10,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 c	5,00 $\pm$ 0,00 bc
60	WT (GA ₃)	91,66 $\pm$ 1,66 a	61,66 $\pm$ 1,66 b	40,00 $\pm$ 7,63 c	46,66 $\pm$ 4,40 bc	61,66 $\pm$ 4,40 b	30,00 $\pm$ 7,63 c
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	98,33 $\pm$ 1,66 a	21,66 $\pm$ 3,33 b	16,66 $\pm$ 1,66 b	16,66 $\pm$ 3,33 b	15,00 $\pm$ 0,00 b	16,66 $\pm$ 1,66 b
72	WT (GA ₃)	91,66 $\pm$ 1,66 a	81,66 $\pm$ 1,66 ab	75,00 $\pm$ 5,77 ab	80,00 $\pm$ 2,88 ab	76,66 $\pm$ 4,40 ab	65,00 $\pm$ 8,66 b
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	98,33 $\pm$ 1,66 a	41,66 $\pm$ 6,66 b	40,00 $\pm$ 2,88 b	31,66 $\pm$ 3,33 b	26,66 $\pm$ 3,33 b	26,66 $\pm$ 4,40 b
84	WT (GA ₃)	93,33 $\pm$ 1,66 a	90,00 $\pm$ 2,88 a	86,66 $\pm$ 4,40 a	93,33 $\pm$ 1,66 c	91,66 $\pm$ 4,40 a	88,33 $\pm$ 3,33 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	98,33 $\pm$ 1,66 a	76,66 $\pm$ 4,40 b	53,33 $\pm$ 1,66 c	51,66 $\pm$ 1,66 c	51,66 $\pm$ 4,40 c	40,00 $\pm$ 10,40 c
96	WT (GA ₃)	93,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	96,66 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 0,00 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	98,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	70,00 $\pm$ 0,00 bc	73,33 $\pm$ 1,66 b	66,66 $\pm$ 1,66 bc	56,66 $\pm$ 4,40 c
108	WT (GA ₃)	93,33 $\pm$ 1,66 a	91,66 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 2,88 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	100,00 $\pm$ 0,00 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	83,33 $\pm$ 3,33 b	95,00 $\pm$ 2,88 ab	91,66 $\pm$ 4,40 ab	85,00 $\pm$ 5,00 ab
120	WT (GA ₃)	96,66 $\pm$ 1,66 a	95,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	100,00 $\pm$ 0,00 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	98,33 $\pm$ 1,66 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	93,33 $\pm$ 4,40 a

Tabela 12. Índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para 50 % de germinação (T50) em sementes de tomateiro MoneyMaker (WT) e mutante *cry1a*. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. Letras diferentes indicam diferenças para o mesmo genótipo nas diferentes intensidades de luz azul, asteriscos indicam diferenças entre os genótipos na mesma intensidade de LA (Teste de Tukey, $P < 0.05$).

Variável	Genótipos	Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)					
		0	1	5	10	15	25
IVG	WT (GA ₃)	6,19 $\pm$ 0,10 a	5,59 $\pm$ 0,08 ab*	5,33 $\pm$ 0,26 b*	5,71 $\pm$ 0,05 ab*	5,87 $\pm$ 0,17 ab*	5,38 $\pm$ 0,12 b*
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	6,55 $\pm$ 0,11 a	5,06 $\pm$ 0,08 b	4,14 $\pm$ 0,17 c	4,59 $\pm$ 0,11 bc	4,43 $\pm$ 0,15 bc	4,07 $\pm$ 0,27 c
T50	WT (GA ₃)	46,88 $\pm$ 0,30 c	57,01 $\pm$ 0,25 b	63,10 $\pm$ 2,25 ab	60,92 $\pm$ 1,39 ab	57,42 $\pm$ 0,77 b	64,85 $\pm$ 1,81 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	46,45 $\pm$ 0,25 d	73,83 $\pm$ 1,96 c*	79,50 $\pm$ 0,86 bc*	79,50 $\pm$ 0,28 bc*	83,50 $\pm$ 2,02 ab*	87,56 $\pm$ 3,31 a*

Tabela 13. Porcentagem de germinação em sementes de tomateiro, Moneymaker (WT) e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em substrato de papel umedecido com ABA, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As avaliações foram realizadas a cada 12 h, os valores representam a média $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. As letras minúsculas comparam e indicam diferenças entre as médias de porcentagem de germinação em cada tempo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey, $P < 0.05$). A taxa de germinação é mostrada a partir de 48 h, início da germinação.

Tempo (h)	Genótipos	----- Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
60	WT (ABA)	51,92 $\pm$ 4,32 a	20,75 $\pm$ 4,06 b	12,92 $\pm$ 0,00 bc	0,00 $\pm$ 0,00 c	16,45 $\pm$ 6,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	61,33 $\pm$ 3,08 a	18,43 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 c	0,00 $\pm$ 0,00 c	12,92 $\pm$ 0,00 bc	0,00 $\pm$ 0,00 c
72	WT (ABA)	63,92 $\pm$ 4,27 a	34,23 $\pm$ 1,02 b	22,97 $\pm$ 5,85 bc	11,90 $\pm$ 6,59 cd	23,99 $\pm$ 6,76 bc	0,00 $\pm$ 0,00 d
	<i>cry1a</i> (ABA)	82,40 $\pm$ 7,59 a	28,85 $\pm$ 1,14 b	0,00 $\pm$ 0,00 b	16,20 $\pm$ 3,28 bc	14,75 $\pm$ 1,83 bc	12,92 $\pm$ 0,00 bc
84	WT (ABA)	83,33 $\pm$ 4,40 a	58,33 $\pm$ 4,40 b	23,33 $\pm$ 10,13 c	20,00 $\pm$ 5,00 c	25,00 $\pm$ 10,40 c	13,33 $\pm$ 3,33 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	98,33 $\pm$ 1,66 a	35,00 $\pm$ 2,88 b	20,00 $\pm$ 5,00 bc	13,33 $\pm$ 4,40 bc	16,66 $\pm$ 4,40 bc	10,00 $\pm$ 2,88 c
96	WT (ABA)	88,33 $\pm$ 3,33 a	71,66 $\pm$ 1,66 ab	31,66 $\pm$ 14,52 c	30,00 $\pm$ 7,63 c	45,00 $\pm$ 7,63 bc	20,00 $\pm$ 7,63 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	100,00 $\pm$ 0,00 a	58,33 $\pm$ 4,40 b	20,00 $\pm$ 5,00 c	25,00 $\pm$ 2,88 c	25,00 $\pm$ 7,64 c	16,66 $\pm$ 1,66 c
108	WT (ABA)	91,66 $\pm$ 1,66 a	88,33 $\pm$ 4,40 a	40,00 $\pm$ 15,27 bc	56,66 $\pm$ 7,26 b	55,00 $\pm$ 5,77 bc	26,66 $\pm$ 7,26 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	100,00 $\pm$ 0,00 a	78,33 $\pm$ 1,66 a	25,00 $\pm$ 5,77 b	31,66 $\pm$ 3,33 b	33,33 $\pm$ 7,26 b	28,33 $\pm$ 4,40 b
120	WT (ABA)	95,00 $\pm$ 2,88 a	93,33 $\pm$ 1,66 a	70,00 $\pm$ 5,77 b	75,00 $\pm$ 2,88 b	85,00 $\pm$ 5,00 ab	51,66 $\pm$ 1,66 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	100,00 $\pm$ 0,00 a	100,00 $\pm$ 0,00 a	66,66 $\pm$ 3,33 b	66,66 $\pm$ 6,66 b	66,66 $\pm$ 6,66 b	53,33 $\pm$ 1,66 b

Tabela 14. Índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo para 50 % de germinação (T50) em sementes de tomateiro Moneymaker (WT) e mutante *cry1a*. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições com 40 sementes. Letras diferentes indicam diferenças para o mesmo genótipo nas diferentes intensidades de luz azul, asteriscos indicam diferenças entre os genótipos na mesma intensidade da LA (Teste de Tukey, $P < 0.05$).

Variável	Genótipos	----- Intensidades de LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
IVG	WT (ABA)	5,52 $\pm$ 0,24 a	4,33 $\pm$ 0,10 a	1,91 $\pm$ 0,70 bc	2,46 $\pm$ 0,33 bc*	2,64 $\pm$ 0,42 b*	1,20 $\pm$ 0,32 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	6,26 $\pm$ 0,05 a	3,65 $\pm$ 0,09 b	1,20 $\pm$ 0,27 c	1,40 $\pm$ 0,17 c	1,58 $\pm$ 0,33 c	1,23 $\pm$ 0,18 c
T50	WT (ABA)	57,43 $\pm$ 0,80 c	79,38 $\pm$ 1,41 b	110,71 $\pm$ 1,24 a	98,83 $\pm$ 3,94 a	99,33 $\pm$ 0,33 a	102,80 $\pm$ 7,43 a
	<i>cry1a</i> (ABA)	55,87 $\pm$ 0,44 c	90,00 $\pm$ 0,69 b*	110,66 $\pm$ 0,66 a	106,42 $\pm$ 2,68 a	106,50 $\pm$ 2,59 a	105,33 $\pm$ 2,40 a

Tabela 15. Atividade da endo- β -mannanase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT	27,71 $\pm$ 1,18 a	21,18 $\pm$ 0,94 ab	27,74 $\pm$ 0,64 a	12,65 $\pm$ 0,88 c	17,60 $\pm$ 0,99 bc	21,89 $\pm$ 1,19 ab
	<i>cry1a</i>	26,36 $\pm$ 0,29 a	15,99 $\pm$ 1,10 bc	7,64 $\pm$ 1,11 d	12,68 $\pm$ 1,22 cd	27,23 $\pm$ 4,22 a	22,33 $\pm$ 2,56 ab
72 h	WT	61,91 $\pm$ 0,25 a	31,77 $\pm$ 1,73 c	28,52 $\pm$ 1,11 c	35,17 $\pm$ 4,25 c	40,29 $\pm$ 2,47 bc	51,93 $\pm$ 5,16 ab
	<i>cry1a</i>	44,37 $\pm$ 5,81 a	11,62 $\pm$ 1,73 c	23,17 $\pm$ 2,21 bc	20,25 $\pm$ 1,54 bc	32,04 $\pm$ 1,89 ab	33,10 $\pm$ 1,13 ab

Tabela 16. Atividade da β -mannosidase em sementes de tomateiro MoneyMaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT	92,02 $\pm$ 4,2 ab	104,50 $\pm$ 4,01 a	104,57 $\pm$ 4,19 a	101,07 $\pm$ 2,37 ab	85,92 $\pm$ 3,98 b	102,50 $\pm$ 1,13 ab
	<i>cry1a</i>	148,26 $\pm$ 4,59 a	106,89 $\pm$ 0,75 b	84,46 $\pm$ 4,71 c	135,43 $\pm$ 6,19 a	104,66 $\pm$ 7,45 b	76,75 $\pm$ 1,78 c
72 h	WT	243,45 $\pm$ 17,36 a	225,25 $\pm$ 4,29 ab	163,25 $\pm$ 2,47 c	208,03 $\pm$ 5,28 b	159,62 $\pm$ 3,10 c	201,36 $\pm$ 5,41 b
	<i>cry1a</i>	191,59 $\pm$ 0,58 abc	213,22 $\pm$ 0,82 a	200,50 $\pm$ 6,74 ab	221,35 $\pm$ 11,20 a	179,24 $\pm$ 0,70 bc	166,14 $\pm$ 11,79 c

Tabela 17. Atividade da α -galactosidase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com água, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT	229,73 $\pm$ 1,45 b	231,32 $\pm$ 7,80 b	189,40 $\pm$ 5,22 c	355,65 $\pm$ 5,66 a	209,29 $\pm$ 5,52 bc	205,60 $\pm$ 3,34 bc
	<i>cry1a</i>	330,30 $\pm$ 14,12 b	284,20 $\pm$ 7,86 cd	306,00 $\pm$ 1,26 bc	269,04 $\pm$ 7,37 de	496,64 $\pm$ 4,82 a	242,22 $\pm$ 4,99 e
72 h	WT	580,70 $\pm$ 5,03 bc	757,34 $\pm$ 32,24 a	706,45 $\pm$ 72,10 a	559,01 $\pm$ 1,53 bc	681,31 $\pm$ 2,93 ab	519,43 $\pm$ 51,29 c
	<i>cry1a</i>	729,18 $\pm$ 0,57 ab	754,25 $\pm$ 8,56 ab	756,73 $\pm$ 7,57 ab	708,50 $\pm$ 27,85 bc	852,43 $\pm$ 7,74 a	594,30 $\pm$ 2,31 c

Tabela 18. Atividade da endo- β -mannanase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de GA₃, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (GA ₃)	39,01 $\pm$ 1,25 a	20,47 $\pm$ 0,84 c	28,15 $\pm$ 1,72 b	15,13 $\pm$ 1,04 d	16,20 $\pm$ 0,97 cd	19,83 $\pm$ 1,03 c
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	24,20 $\pm$ 0,98 a	22,91 $\pm$ 1,01 bc	20,49 $\pm$ 0,35 d	14,27 $\pm$ 0,93 cd	22,01 $\pm$ 1,16 a	16,91 $\pm$ 0,69 ab
72 h	WT (GA ₃)	83,67 $\pm$ 3,91 a	29,57 $\pm$ 1,77 c	30,15 $\pm$ 1,02 c	27,48 $\pm$ 0,86 c	44,11 $\pm$ 3,061 b	41,75 $\pm$ 2,45 b
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	34,72 $\pm$ 0,32 ab	19,46 $\pm$ 0,67 c	25,46 $\pm$ 3,32 bc	32,95 $\pm$ 4,6 ab	18,48 $\pm$ 0,41 c	38,42 $\pm$ 1,37 a

Tabela 19. Atividade da β -mannosidase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de GA₃, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (GA ₃)	123,64 $\pm$ 2,10 b	118,95 $\pm$ 5,69 b	143,18 $\pm$ 3,15 a	120,97 $\pm$ 3,71 b	127,74 $\pm$ 2,59 b	120,97 $\pm$ 3,71 b
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	136,68 $\pm$ 5,96 a	116,22 $\pm$ 2,54 bc	106,98 $\pm$ 2,06 c	125,22 $\pm$ 1,34 ab	126,29 $\pm$ 2,46 ab	113,83 $\pm$ 2,46 bc
72 h	WT (GA ₃)	244,67 $\pm$ 0,34 a	242,96 $\pm$ 0,67 ab	220,81 $\pm$ 3,10 b	243,29 $\pm$ 1,87 ab	249,36 $\pm$ 2,3 a	185,10 $\pm$ 3,96 c
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	237,22 $\pm$ 0,51 ab	256,11 $\pm$ 1,13 a	233,61 $\pm$ 5,65 ab	223,86 $\pm$ 3,07 bc	196,14 $\pm$ 7,75 d	201,30 $\pm$ 14,60 cd

Tabela 20. Atividade da α -galactosidase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de GA₃, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (GA ₃)	538,29 $\pm$ 0,67 f	691,99 $\pm$ 0,85 e	728,99 $\pm$ 0,88 c	873,96 $\pm$ 1,05 a	829,93 $\pm$ 0,98 b	718,15 $\pm$ 0,84 d
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	626,38 $\pm$ 14,12 d	696,23 $\pm$ 0,87 c	621,40 $\pm$ 0,75 e	849,63 $\pm$ 1,01 b	888,48 $\pm$ 1,04 a	545,02 $\pm$ 0,635 f
72 h	WT (GA ₃)	468,67 $\pm$ 5,97 bc	405,43 $\pm$ 7,16 d	352,55 $\pm$ 0,86 e	453,00 $\pm$ 5,78 c	490,43 $\pm$ 8,88 b	532,02 $\pm$ 5,80 a
	<i>cry1a</i> (GA ₃)	452,52 $\pm$ 11,15 c	371,95 $\pm$ 0,91 d	446,94 $\pm$ 6,7 c	604,42 $\pm$ 7,57 b	666,97 $\pm$ 5,72 a	617,97 $\pm$ 1,54 b

Tabela 21. Atividade da endo- β -mannanase em sementes de tomateiro MoneyMaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de ABA, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (ABA)	22,87 $\pm$ 2,83 ab	31,52 $\pm$ 1,48 a	25,43 $\pm$ 1,46 ab	20,34 $\pm$ 1,07 b	30,55 $\pm$ 2,11 a	25,03 $\pm$ 2,99 ab
	<i>cry1a</i> (ABA)	26,51 $\pm$ 0,83 a	26,95 $\pm$ 0,99 a	24,37 $\pm$ 1,14 a	19,37 $\pm$ 1,74 a	20,82 $\pm$ 4,29 a	19,32 $\pm$ 2,32 a
72 h	WT (ABA)	59,54 $\pm$ 6,65 a	29,12 $\pm$ 1,41b	67,52 $\pm$ 3,44 a	51,07 $\pm$ 4,56 a	68,03 $\pm$ 4,12 a	64,64 $\pm$ 3,85 a
	<i>cry1a</i> (ABA)	53,21 $\pm$ 5,91 a	46,35 $\pm$ 5,00 a	45,07 $\pm$ 7,20 a	53,16 $\pm$ 4,94 a	52,07 $\pm$ 1,45 a	48,31 $\pm$ 2,25 a

Tabela 22. Atividade da β -mannosidase em sementes de tomateiro MoneyMaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de ABA, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (ABA)	81,20 $\pm$ 0,677 c	106,84 $\pm$ 3,30 b	104,46 $\pm$ 1,13 b	132,10 $\pm$ 6,00 a	101,29 $\pm$ 1,89 b	100,55 $\pm$ 1,10 b
	<i>cry1a</i> (ABA)	114,58 $\pm$ 0,79 a	114,43 $\pm$ 1,71 a	109,87 $\pm$ 2,35 a	116,44 $\pm$ 2,54 a	92,31 $\pm$ 1,80 b	95,77 $\pm$ 0,34 b
72 h	WT (ABA)	196,09 $\pm$ 3,32 a	169,38 $\pm$ 2,97 b	178,66 $\pm$ 0,47 b	152,67 $\pm$ 2,39 c	167,93 $\pm$ 2,62 bc	167,61 $\pm$ 0,02 bc
	<i>cry1a</i> (ABA)	212,89 $\pm$ 0,79 a	210,51 $\pm$ 5,3 a	182,46 $\pm$ 6,88 b	158,52 $\pm$ 3,34 c	215,73 $\pm$ 0,92 a	165,48 $\pm$ 5,37 c

Tabela 23. Atividade da α -galactosidase em sementes de tomateiro Moneymaker (WT), e mutante *cry1a*. As sementes foram germinadas em papel umedecido com solução de ABA, no escuro (0), ou sob luz azul contínua com as intensidades de 1, 5, 10, 15 e 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados são das médias $\pm$ SE de três repetições. Letras minúsculas diferentes comparam e indicam diferenças no mesmo genótipo nas diferentes intensidades da LA (Teste de Tukey em $P < 0,05$).

Tempo	Genótipos	----- Intensidades da LA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) -----					
		0	1	5	10	15	25
36 h	WT (ABA)	457,87 $\pm$ 9,49 b	592,33 $\pm$ 21,51 a	375,10 $\pm$ 7,92 c	377,14 $\pm$ 4,83 c	293,11 $\pm$ 1,54 d	338,14 $\pm$ 2,11 c
	<i>cry1a</i> (ABA)	337,14 $\pm$ 4,41 cd	432,72 $\pm$ 7,63 a	400,03 $\pm$ 3,39 ab	358,91 $\pm$ 19,06 bc	411,92 $\pm$ 3,40 a	296,56 $\pm$ 2,58 d
72 h	WT (ABA)	192,52 $\pm$ 2,50 a	143,78 $\pm$ 3,38 b	126,63 $\pm$ 3,18 b	99,49 $\pm$ 1,29 c	95,85 $\pm$ 1,78 c	210,77 $\pm$ 1,71 a
	<i>cry1a</i> (ABA)	143,38 $\pm$ 3,90 c	116,82 $\pm$ 4,64 d	112,82 $\pm$ 4,25 d	104,19 $\pm$ 3,51 d	323,02 $\pm$ 13,30 a	236,49 $\pm$ 5,46 b