

FOTOMORFOGÊNESE

Rogério F. Carvalho & Lázaro E. P. Peres – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
- E-mail. lazaropp@esalq.usp.br

I - INTRODUÇÃO

II - O FITOCROMO

III - MUTAÇÕES FOTOMORFOGENÉTICAS

IV - GERMINAÇÃO, FLORAÇÃO E FITOCROMO

V - FUNÇÃO ECOLÓGICA DO FITOCROMO

VI - A LUZ E OS HORMÔNIOS VEGETAIS

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

I- INTRODUÇÃO

Fotomorfogênese e fotossíntese são processos interdependentes

A fotossíntese não é o único processo para o qual a luz é essencial. Durante o ciclo de vida vegetal, várias respostas, que conferem enormes vantagens no estabelecimento e na sobrevivência da planta, tais como germinação de sementes, inibição do alongamento caulinar, síntese de clorofila e antocianinas, expansão foliar, floração e tuberização, estão envolvidas diretamente com a duração e a qualidade da luz. O processo pelo qual a luz regula o desenvolvimento das plantas é denominado fotomorfogênese (Kendrick & Kronenberg 1994).

A maioria dos processos biológicos influenciados pela luz, tanto para animais quanto para vegetais, ocorrem na faixa do espectro denominada luz visível, o qual varia de 400 a 700 nm (Figura 1). Assim, a principal fonte de energia para a fotossíntese se encontra nos intervalos da luz visível e os efeitos desta faixa do espectro podem ser observados também na fotomorfogênese. Contudo, alguns pigmentos estão envolvidos na percepção dos sinais trazidos pela luz e possuem seu pico de absorção em comprimentos de ondas abaixo de 400 nm e acima de 700nm. Alguns pigmentos envolvidos na fotomorfogênese são moléculas semelhantes à clorofila, mas que conferem à planta um ajuste em seu programa de desenvolvimento no ambiente em que se encontra, independente da fotossíntese. Por outro lado, tanto pigmentos fotossintéticos quanto os fotomorfogenéticos podem coincidir seus picos de absorção como um mecanismo interativo do desenvolvimento da planta. A estreita relação entre fotossíntese e fotomorfogênese se faz notar também nos próprios processos fotomorfogenéticos listados acima. Assim, na germinação de sementes, aquelas espécies que possuem sementes contendo muitas reservas (produto prévio da fotossíntese) geralmente são capazes de germinar no escuro. No entanto, sementes sem reservas geralmente requerem luz para germinar e esse requerimento garante que elas só germinem em condições em que possam fazer fotossíntese e compensar a falta de reservas. Do mesmo modo, o maior alongamento dos caules (estiolamento) em locais de pouca luz, aumenta as chances da planta “fugir” da sombra e realizar fotossíntese. Por fim, é interessante notarmos que processos

como a síntese de clorofila e a expansão foliar, os quais são necessários para a planta fazer fotossíntese, e processos como a floração e tuberização, os quais só devem ocorrer se a planta tem condições de suprir fotoassimilados, são diretamente regulados pela fotomorfogênese.

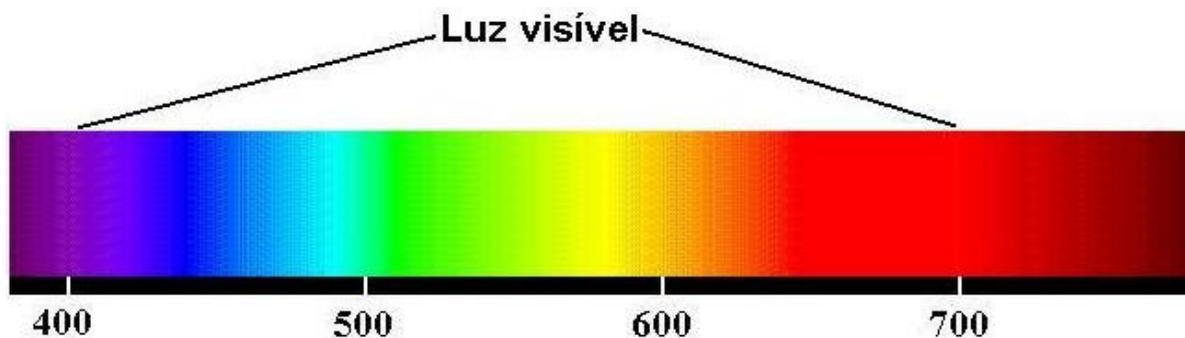


Figura 1: Espectro da luz. A faixa compreendida entre 400 e 700 nm é efetiva para a maioria dos processos fisiológicos tanto em animais (ex. visão) como em plantas (ex. fotomorfogênese e fotossíntese). Comprimentos de onda da extremidade esquerda do presente espectro são denominados ultra violeta e aqueles da extremidade direita são denominados infravermelho. A radiação ultra violeta pode causar danos às células vivas por ser ionizante e a radiação infravermelha também pode ser bastante danosa, já que são ondas de calor.

Existem pelo menos três tipos de fotorreceptores para fotomorfogênese

No processo fotomorfogênético existem pelo menos três classes de fotorreceptores: fitocromos, os quais absorvem predominantemente o comprimento de onda do vermelho (V, 650-680 nm) e vermelho-extremo (VE, 710-740 nm) (Figura 2), fotorreceptores que absorvem a luz azul/UV-A (320-400nm), denominados criptocromos, e fotorreceptores que absorvem o UV-B (280-320 nm). Esses fotorreceptores traduzem a informação da luz em sinais bioquímicos, por processos ainda pouco elucidados.

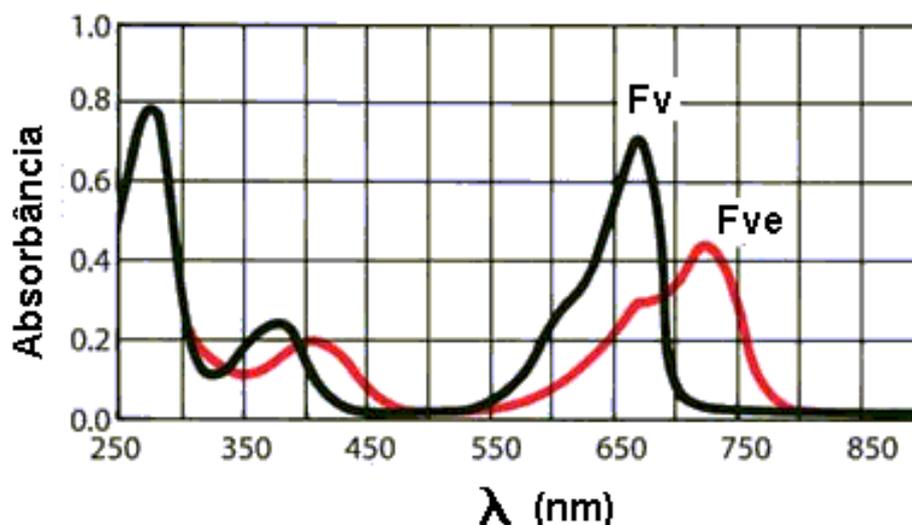


Figura 2: Picos de absorção de Fv em V (660) e Fve em VE (730). No entanto, Fv também absorve um pouco na faixa do VE e Fve absorve uma quantidade proeminente de V. Note que além da faixa do vermelho, as formas de fitocromo também possuem picos de absorção na faixa do azul (320-400nm) e ultra violeta (280 nm). A absorção na faixa do vermelho e do azul é devido ao cromóforo. A absorção na faixa do UV deve-se provavelmente à porção protéica do fitocromo.

II - O FITOCROMO

A absorção de luz vermelha converte o fotorreceptor fitocromo na forma isomérica ativa

Os fotorreceptores mais estudados são os fitocromos. A ampla distribuição dos fitocromos, presentes em algas, plantas menos complexas como musgos e samambaias até plantas superiores, indica o grau de importância destes fotorreceptores. Recentemente, também foi observada a presença destes pigmentos em cianobactérias (Hughes et al., 1997).

O fitocromo é um pigmento azul com massa molecular 150 KDa consistindo em um polipeptídeo (apoproteína) carregando um cromóforo, a fitocromobilina, a qual é um tetrapirrol linear. Um outro conhecido tetrapirrol está presente na molécula da clorofila, o qual é cíclico e contém um átomo de Mg^{2+} no centro. O cromóforo, sintetizado no plastídio, é a porção não protéica do fitocromo, responsável pela absorção da luz. A união do cromóforo com a apoproteína ocorre no citoplasma. Não se sabe se existe alguma enzima que promove a junção cromóforo + apoproteína, contudo, sabe-se que é um processo autocatalítico, isto é, ocorre espontaneamente *in vitro* se os dois componentes são colocados juntos. A porção protéica do fitocromo recebe o nome de holoproteína após a união da apoproteína ao cromóforo.

Existem duas formas interconvertíveis de fitocromo, uma ativa e outra inativa. A forma inativa do fitocromo (Fv), absorve o comprimento de onda do vermelho (V) e é convertida à forma biologicamente ativa (Fve). Embora Fv absorva muito pouco no comprimento de onda do azul (Figura 2), esse comprimento de onda também converte Fv em Fve. A reversão de Fve a Fv se dá pela absorção do vermelho-extremo (VE) pelo Fve (Figura 3). A reversão de Fve a Fv também pode ocorrer no escuro. A quantidade de fitocromo presente na planta na forma ativa pode ser expressa como $Fve/(Fv+Fve)$. Para produzir um efeito fotomorfogênético na planta deve haver uma proporção específica de Fve/F_{total} . Pode-se concluir pelo exposto acima que para saber se uma resposta é induzida por fitocromo, é necessário saber se ela é revertida por luz VE. Contudo, como se verá adiante, esse critério pode ser utilizado para se confirmar que uma resposta é mediada por fitocromo, mas o fato de uma resposta não ser revertida por VE, não quer dizer que ela não seja mediada por fitocromo.

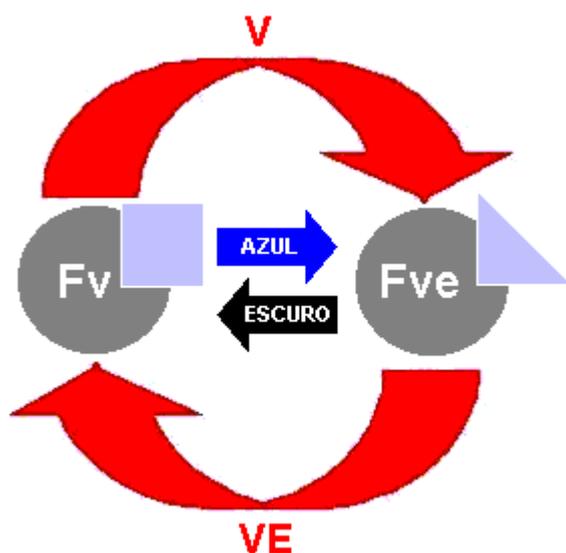


Figura 3: A fotoconversão da forma do fitocromo Fv a Fve é induzida por comprimento de onda do vermelho (V) e por luz azul, e a reversão de Fve a Fv é induzida por comprimento de onda do vermelho-extremo (VE) e também pelo escuro.

Como visto anteriormente, a forma Fve, além de absorver luz VE, também absorve um pouco de V (Figura 2), e isso faz com que ao expor uma planta a luz V, haverá conversão de Fv a Fve, mas uma parte do Fve produzido também absorverá V e se converterá de volta a Fv. Desse modo, após saturação de luz V apenas 85 % de fitocromo estará na forma Fve. Por outro lado, na saturação com luz VE, embora a forma Fv absorva predominantemente luz V e muito pouca luz VE (Figura 2), ainda haverá 3% Fve (ativo) contra 97% de Fv (inativo). Como se verá adiante, para alguns tipos de respostas fotomorfogenéticas, 3% de fitocromo ativo são suficientes, o que explica que essas respostas não sejam revertidas por luz VE. A proporção entre as formas ativas e inativas na saturação com luz V ou VE é denominada **estado fotoestacionário**.

A reação de conversão da forma inativa de fitocromo (Fv) em forma ativa (Fve) é uma reação de isomerização. Desse modo, a absorção do vermelho pelo Fv, resulta na mudança do anel D da forma cis (inativa), com relação ao anel C, para forma trans (ativa) característica do Fve (Figura 4). Mudanças na propriedade protéica também contribuem para a alteração entre as duas formas do fitocromo.

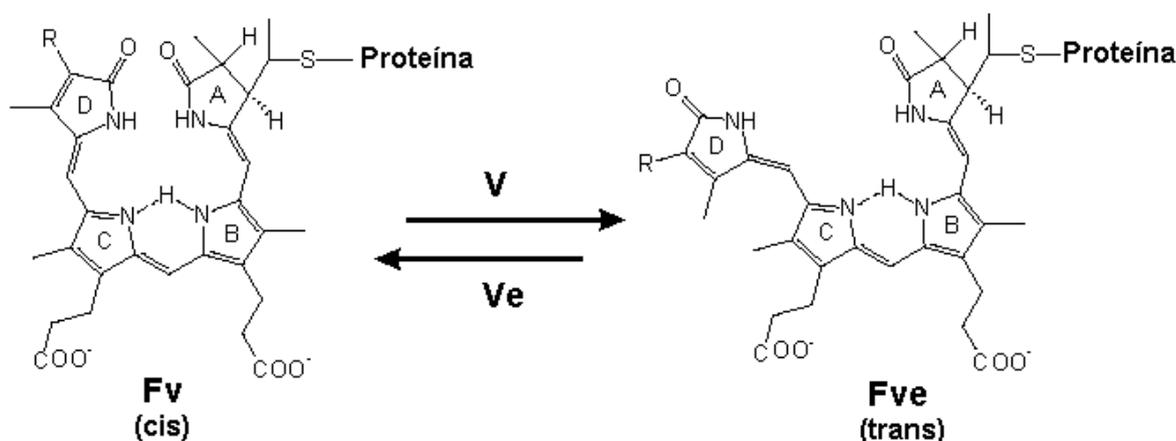


Figura 4: Fotoisomerização entre os anéis C e D do cromóforo. A absorção do vermelho por Fv, resulta na mudança do anel D da forma cis (inativa) para forma trans (ativa) característica do Fve. A proteína ligada ao cromóforo também sofre mudança conformacional.

Um dos primeiros pesquisadores a observar o efeito antagonista V/VE no desenvolvimento das plantas foi Sterling Hendriks, o qual trabalhava em 1950 com germinação de sementes de alface no Departamento de Agricultura do EUA (USDA). Um pouco depois, no ano de 1959 foi confirmada a presença de um fotorreceptor (fitocromo) capaz de mediar essas respostas nos tecidos vegetais. Há que se considerar a existência de uma dificuldade intrínseca no estudo do fitocromo: trata-se de uma molécula muito difícil de purificar para ensaios *in vitro*. Contudo, em ensaios *in vivo* com tecido estiolado (sem clorofila para interferir) é possível detectar o fitocromo, medindo a absorbância de pedaços de hipocótilos/epicótilos nos picos característicos do fitocromo (Figura 2). Desde os primeiros estudos com fitocromo, sempre houve uma preferência na utilização de plântulas estioladas, já que são ricas nesse fotorreceptor. Contudo, plantas crescidas no escuro possuem uma atividade de proteólise igualmente proeminente, o que dificulta o isolamento do fitocromo.

Existem vários tipos de apoproteínas para um só cromóforo

Pode se dizer que os avanços mais significativos no entendimento do fitocromo ocorreram no final da década de 80, quando se aplicou uma abordagem genética para o seu

estudo. Tal abordagem revelou uma diversidade de genes deste fotorreceptor, abrindo um amplo caminho nas questões genéticas, fisiológicas, ecofisiológicas e evolutivas do fitocromo. Evidências de que as angiospermas possuem várias espécies de fitocromos codificados por uma pequena família de genes foram verificadas inicialmente em estudos com *Arabidopsis thaliana* (Sharrock and Quail 1989). Cinco genes do fitocromo foram isolados nesta espécie: *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE*, que codificam as apoproteínas *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE*, as quais após se ligarem ao cromóforo formam os fitocromos *phyA*, *phyB*, *phyC*, *phyD* e *phyE*, respectivamente. Em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) também foram encontrados cinco genes para apoproteínas: *PHYA*, *PHYB1*, *PHYB2*, *PHYE* e *PHYF* (Pratt et al. 1997).

O fitocromo que possui a apoproteína *phyA* é considerado do tipo I e todos os demais são considerados do tipo II. A grande diferença entre os dois tipos de fitocromo é que o tipo I se acumula predominantemente em plantas crescidas no escuro ou na penumbra e é facilmente degradado na presença de luz. Os mecanismos que contribuem para a abundância de fitocromo do tipo I no escuro é o fato do gene *PHYA* ser transcrito preferencialmente nessas condições e sua expressão ser inibida pela luz. Desse modo, se uma planta crescida no escuro for iluminada com V, a forma Fve de *phyA* resultante inibirá a expressão de seu próprio gene.

As respostas mediadas por fitocromo podem variar de acordo com a fluência ou a irradiância da fonte luminosa

Os fitocromos podem agir de três diferentes modos, de acordo com a qualidade e a duração da luz requerida para induzir respostas na planta: respostas de fluência¹ muito baixa (RFMB), resposta de baixa fluência (RBF) e resposta de irradiância alta (RIA). Ambos RFMB e RIA são mediados por *phyA*, entretanto, RBF é mediado por *phyB*, e em muitos casos por outros fitocromos diferentes de *phyA*.

A RBF é a resposta clássica de fitocromo induzida por V e revertida por VE, como ocorre na germinação de sementes de alface. Esse tipo de resposta requer um mínimo de fluência de 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ e satura a 1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$. Desse modo, sob contínua exposição ao V ou pulsos de V, uma grande proporção de moléculas de *phyB* (85%) convertem-se na forma ativa (Figura 5).

A RFMB inicia em 0,1 $\text{nmol}\cdot\text{m}^{-2}$ e satura em 50 $\text{nmol}\cdot\text{m}^{-2}$. Essa pequena quantidade de luz V converte menos que 0,02 % do fitocromo total (*phyA*) em Fve. Como visto anteriormente, devido ao fato da forma inativa do fitocromo (Fv) também absorver um pouco de VE e se tornar ativa, mesmo sob saturação de VE, haverá 3% de Fve. Essa pequena quantidade de fitocromo ativo é bem maior do que os 0,02% necessários para induzir RFMB (Figura 5). É justamente por isso que, ao contrário de RBF, a RFMB não apresenta a clássica reversão por VE.

¹ Entende-se por **fluência** a quantidade de fótons (mol) incidindo em uma determinada área (m^{-2}). Se levarmos em conta o tempo (s^{-1}) de incidência dos fótons, teremos a **irradiância**, ou taxa de fluência, cuja unidade é $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Quanto maior a irradiância, mais “brilhante” é uma fonte luminosa.

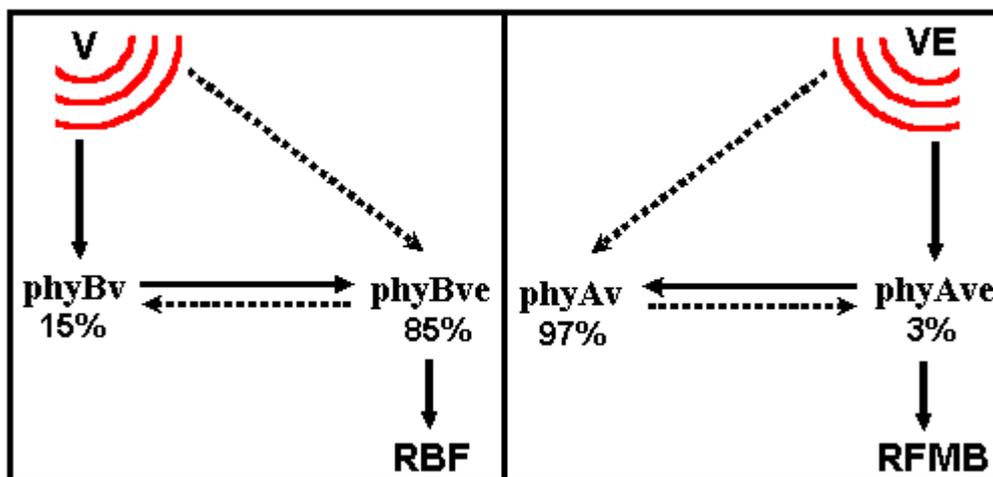


Figura 5: Interação entre fluência e comprimento de onda da fonte luminosa na resposta ao fitocromo. Plantas crescidas sob V acumulam preferencialmente phyB. Nessas condições, a forma Fv desse tipo de fitocromo (phyBv) irá absorver V e se converter na forma ativa (phyBve). Contudo, a forma phyBve (Fve) também absorve um pouco de V (cf. Figura 2), se convertendo novamente em phyBv. No equilíbrio fotoestacionário, 85% de phyB estará na forma ativa, o que é suficiente para induzir respostas de baixa fluência (RBF). Do mesmo modo, na saturação com VE, o tipo de fitocromo que acumula nessas condições (phyA) estará com 97% de suas moléculas na forma inativa (phyAv) e somente 3% na forma ativa (phyAve). Contudo, essa quantidade de phyA ativo é mais do que suficiente para induzir resposta de fluência muito baixa (RFMB).

Por fim, RIA requer exposição prolongada ou exposição contínua a luz de irradiância alta, ou seja, a resposta é proporcional a irradiância e não à fluência. É justamente por isso que ela é denominada RIA e não resposta de fluência alta (RFA). Nesse caso, RIA não responde à lei da reciprocidade², ou seja, exposição contínua à luz fraca ou exposição rápida a luz muito brilhante, não induzem RIA. Além de RIA precisar de fluência muito alta para saturar, ela não é fotoconversível (V/VE). Esse tipo de resposta é mediada por phyA e só ocorre sob VE contínuo e não sob pulsos de VE ou mesmo V. Um típico exemplo de RIA é a síntese de antocianinas em algumas espécies de dicotiledôneas.

Os três tipos de resposta (RBF, RFMB e RIA) podem estar envolvidos em um mesmo evento fisiológico. Na inibição do crescimento do hipocótilo em plantas previamente crescidas no escuro, o phyA que se acumula nessas condições pode inibir o estiolamento tanto por RFMB sob pulsos de VE, quanto por RIA, sob VE contínuo (Figura 6). Por outro lado, em plantas previamente crescidas no claro e mantidas sob V, a inibição do crescimento do hipocótilo é induzida por phyB atuando em RBF. No caso da germinação de sementes, a luz VE contínua em RIA ou pulsos de VE em RBF irão inibir esse processo. No primeiro caso, a inibição da germinação é mediada por phyA e no segundo por phyB (Figura 6). Contudo, sementes podem ser induzidas para germinação sob VE, desde que esse atue em fluência muito baixa, sendo essa resposta mediada por phyA. Exposição com luz V normalmente induz germinação de sementes, sendo essa a clássica RBF mediada por phyB.

² Lei da reciprocidade: se a exposição for prolongada, a intensidade da luz pode ser baixa e vice-versa. RFMB e RBF respondem a essa lei.

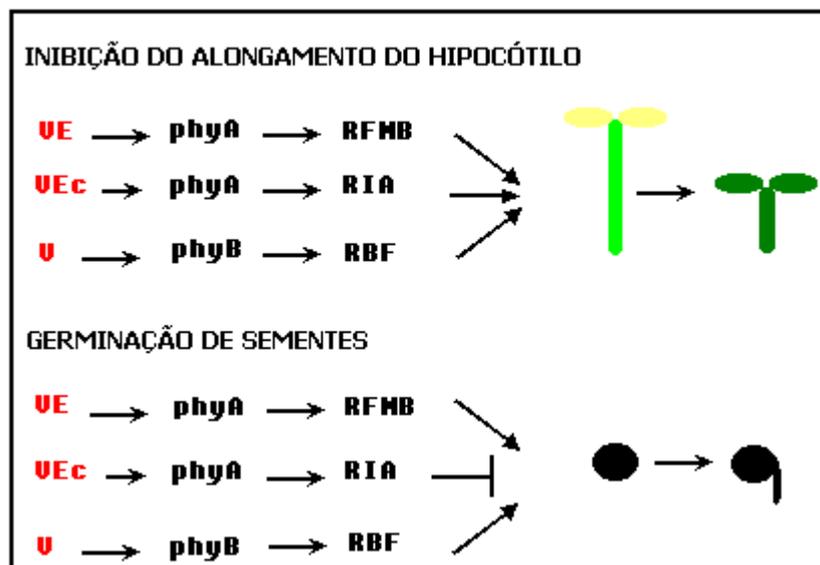


Figura 6: Modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da germinação de sementes. RFMB é mediada por phyA sob VE. RBF é mediada por phyB sob V. RIA é mediada por phyA sob exposição ao vermelho-extremo contínuo (VEc). Observe que a germinação de sementes é inibida por VEc em RIA ou por pulsos de VE em RBF (não mostrado aqui). Adaptado de Casal & Sanchez, 1998.

Atualmente, apesar da abundância de dados sobre a distribuição intracelular dos fitocromos e as características das vias de sinalização controladas por estes fotorreceptores, sua função molecular primária ainda permanece obscura. As atividades dos fitocromos como holoproteínas receptores quinases associadas à membrana e reguladores da transcrição de genes são parcialmente aceitas até o momento. Nesse sentido, já se evidenciou que em células iluminadas com V, o fitocromo migra do citossol para as membranas. Do mesmo modo, já foram identificadas algumas proteínas que são fosforiladas pela atividade quinase do fitocromo. Uma delas é o próprio criptocromo. A constatação de que phyA é capaz de ativar moléculas de criptocromo por fosforilação explica em parte o efeito conjunto de phyA e criptocromo na resposta à luz azul. Por fim, dois genes cuja expressão é regulada por fitocromo são o que codifica a pequena subunidade da rubisco (RBCS) e o que codifica a proteína que se liga à clorofila a/b do complexo antena (LHCB ou CAB). Essa última constatação reforça a idéia original de que fotomorfogênese e fotossíntese estão intimamente associadas. Muitos estudos ainda precisam ser realizados para o entendimento do modo de ação do fitocromo e uma abordagem promissora para tal pode ser a análise do fenótipo de vários mutantes envolvidos nesses processos.

III- MUTAÇÕES FOTOMORFOGENÉTICAS

Mutantes fotomorfogenéticos são ferramentas muito importantes no estudo de fotorreceptores. O efeito primário da mutação é a expressão defeituosa ou alterada de um gene. Mutações em genes específicos da biossíntese ou da via de transdução de sinal do fitocromo permitem analisar as diferentes funções fisiológicas destes fotorreceptores. Em tomateiro, mutantes com alteração na síntese ou expressão do fitocromo já foram isolados (Figura 7).

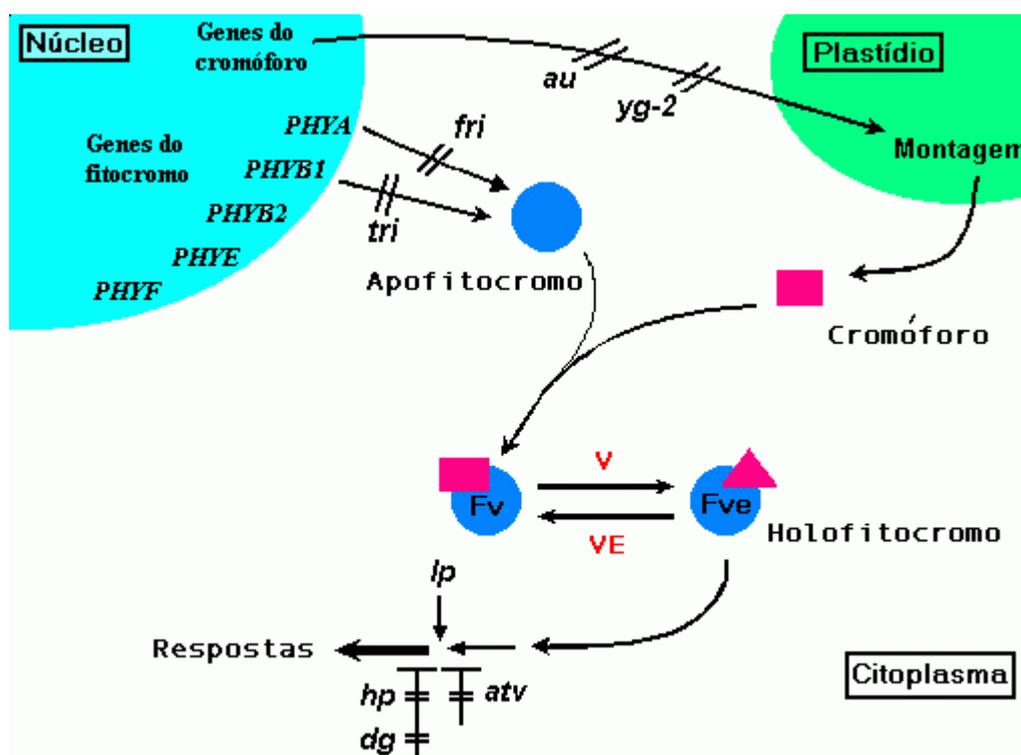


Figura 7: Deficiência na síntese do fitocromo nos mutantes *fri*, *tri*, *yg-2* e *au*. Os mutantes *fri* e *tri* são defeituosos para a fabricação de apoproteínas *phyA* e *phyB1*, respectivamente. As mutações *au* e *yg-2* possuem alterações na via de biossíntese do cromóforo. Apesar dos genes necessários para biossíntese do cromóforo estarem no núcleo, sua molécula é montada nos plastídios. As alterações fotomorfogênicas nos mutantes *lp*, *hp*, *dg* (*hp-2*) e *atv* ocorrem na via de transdução de sinal do fitocromo (Adaptado de Kendrick et al. 1997).

Os mutantes *yellow green-2* (*yg-2*) e *aurea* (*au*) de tomateiro não respondem aos efeitos da luz branca (Figura 8). Desta forma, o hipocótilo se apresenta alongado e com pouco acúmulo de antocianinas. O aspecto clorótico das plantas dá a impressão de que estejam crescendo na ausência da luz. Estes aspectos da planta mesmo sob luz branca indicam deficiência de fitocromo. Nesse dois mutantes em questão, todos os tipos de fitocromo estão em baixas quantidades, indicando que a deficiência é na síntese do cromóforo. Como visto anteriormente, embora existam diferentes tipos de apoproteínas, o cromóforo é o mesmo para todas elas. Desse modo, a deficiência na síntese do cromóforo acarreta alterações em todos tipos de fitocromos. A deficiência também pode ser observada durante a germinação. Plantas de tomateiro não mutantes (WT) são exemplos de plantas que germinam no escuro, porém sementes de *au* possuem baixa taxa de germinação quando postas no escuro, mostrando que o índice de fitocromo ativo nas sementes é bastante reduzido (Kendrick and Georghiou 1991).



Figura 8: Fenótipo do mutante *aurea* (*au*) de tomateiro. As plantas da esquerda são do tipo não mutante e as plantas da direita são do mutante *au*. Notar o aspecto estiolado das plantas e o baixo acúmulo de clorofila, prevalecendo os carotenóides (amarelo) que conferem a coloração dourada das plantas.

Outras mutações com deficiência na percepção da luz podem ser observadas em *Lycopersicon*. O mutante *fri* (*far red insensitive*) aparece em plantas insensíveis ao comprimento de onda do vermelho-extremo. O acúmulo de fitocromo tipo A (*phyA*) em plantas que crescem sob VE é a tentativa da inibição do alongamento do hipocótilo durante o estiolamento, e a deficiência no acúmulo de *phyA* sob VE após o período de germinação no escuro causam um estiolamento proeminente nestes mutantes (Figura 9). Porém, quando crescidos sob luz branca o fenótipo de *fri* é quase indistinguível ao do tipo selvagem (Van Tuinen. et al. 1995a).

Plantas deficientes temporariamente na percepção do comprimento de onda do vermelho, mutantes *tri* (*temporary red insensitive*), também foram encontradas em tomateiro. O fitocromo tipo B (*phyB*) é o pigmento envolvido na percepção de plantas crescidas sob V, com o mesmo objetivo de inibição do alongamento do hipocótilo. Mutantes de tomateiro que estiolam sob este comprimento de onda são deficientes no acúmulo de *phyB* (Figura 9), e um atraso temporário por aproximadamente dois dias na inibição do alongamento do hipocótilo pode ser observado após a transferência do escuro para o V (Van Tuinen. et al. 1995b).

As mutações *fri* e *tri* possuem alterações na síntese da subunidade protéica do fitocromo, ou seja, na codificação da apoproteína PHYA e PHYB1, respectivamente. Além da participação conjunta de *phyA* e *phyB* na inibição do alongamento do hipocótilo, outras respostas fotomorfogênicas parecem envolver ambos durante o ciclo de vida da planta.

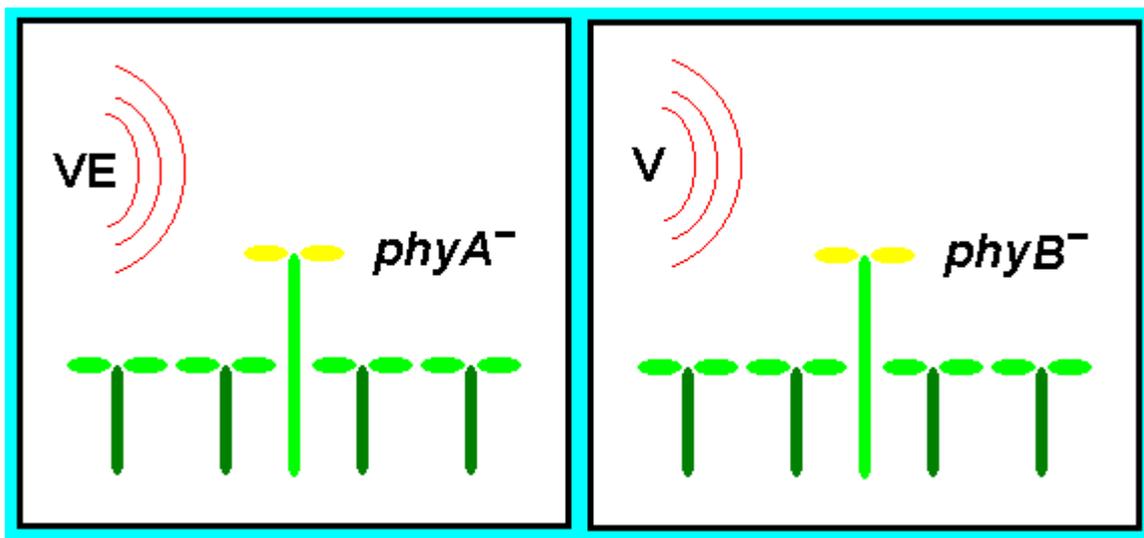


Figura 9: Mutantes deficientes no acúmulo de phyA apresentam um estiolamento proeminente após a transferência do escuro para o VE (esquerda). Sob V, mutantes deficientes no acúmulo de phyB estiolam por um período de aproximadamente dois dias após a transferência do escuro para o V.

Ainda em tomateiro, mutantes exibindo uma resposta exagerada à luz têm sido descritos: *high-pigment* (*hp*), *dark green* (*dg*), *Intense pigment* (*Ip*) e *atroviolacea* (*atv*). Estas mutações conferem alta pigmentação ao caule, folha e fruto nesta espécie (Kendrick et al. 1994). A síntese do fitocromo nestes mutantes ocorre normalmente, sem alterações na formação da apoproteína ou do cromóforo, sugerindo que a alteração está na via de transdução de sinal equivalendo a uma superexpressão dos fitocromos durante a fotomorfogênese.

O mutante recessivo *hp* é caracterizado pela produção de altos níveis de carotenos (β -caroteno e licopeno) e xantofilas, além de apresentar elevados índices de vitamina C em frutos maduros. A coloração verde escura dos frutos imaturos (Figura 10) é devido à alta concentração de clorofila, comparada a do tipo selvagem (Kerckhoffs et al. 1997). Alta pigmentação de antocianina no hipocótilo e em frutos imaturos de tomateiro são características encontradas especialmente em mutantes *atv*. O fenótipo da mutação dominante *Ip* é semelhante àquele de *hp*.



Figura 10: Fenótipo da mutação *high pigment* (*hp*) em tomateiro. O fruto da esquerda representa a forma não mutada (WT) e o fruto da direita é o mutante *hp*. Notar a intensa coloração verde dos frutos imaturos. A coloração verde parece ser devido a um maior número de cloroplastos. Ao longo do amadurecimento há uma degradação da clorofila e os carotenóides presentes nos cloroplastos se tornam evidentes. Esses carotenóides juntamente com o licopeno sintetizado *de novo* conferem uma intensa coloração vermelha aos frutos deste mutante.

O caráter recessivo das mutações *hp* e *atv* sugere que os genes *HP* e *ATV* não mutados sejam repressores da expressão do fitocromo. Desse modo, a perda da função dos genes *HP* e *ATV* permite ao fitocromo atuar de modo exagerado. Por outro lado, o caráter dominante da

mutação *Ip* sugere o gene *IP* seja um indutor da expressão do fitocromo, cuja mutação fez com que ele perdesse a capacidade de ser regulado (reprimido).

IV- GERMINAÇÃO, FLORAÇÃO E FITOCROMO

Existem sementes que só germinam no escuro e outras que só germinam no claro

A germinação de sementes e a floração são os eventos mediados por fitocromos mais estudados no ciclo de vida da planta. Muitas espécies vegetais requerem luz para a germinação (ex. *Latuca sativa* cv Grand Rapids, ou seja, alface) de suas sementes, um processo que tem mostrado ser estimulado pela luz vermelha e inibido pelo vermelho-extremo. Muitas sementes germinam em completa ausência de luz e outras inclusive não se germinam se forem iluminadas (ex. *Cucumis anguria*, ou seja, o maxixe). Isto indica que o fitocromo na forma ativa já estava presente nestas sementes ou a germinação não requer fitocromos. Algumas sementes necessitam de períodos alternados de luz e escuro para induzir a germinação, implicando no mecanismo de fotorreversão das formas do fitocromo. Sob contínua exposição ao comprimento de onda do V é possível observar em sementes de tomateiro altas proporções de germinação. Sob VE, a germinação de sementes de tomateiro é bastante inibida (Figura 11).



Figura 11: Sementes de tomateiro postas para germinar sob V apresentam elevadas proporções de germinação (esquerda-superior). Sob VE a germinação é inibida (esquerda-inferior). O V foi fornecido por lâmpadas fluorescentes sobre um filtro vermelho (direita-superior). VE foi fornecido por lâmpadas incandescentes sobre um filtro vermelho e um azul (direita-inferior). A incubadora mostrada aqui foi montada no laboratório do Dr. Massanori Takaki (UNESP-Rio Claro). Notar as emissões branca e a amarelada características das lâmpadas fluorescente e incandescente, respectivamente.

O estímulo e a inibição da germinação de sementes pela luz são denominados **fotoblastismo positivo e negativo**, respectivamente. Para considerar estes dois processos é necessário também levar em conta, além da proporção das formas do fitocromo (F_v/F_v+F_{ve}), fatores como disponibilidade de água, temperatura e oxigênio, os quais são imprescindíveis para a germinação. Sementes fotoblásticas positivas postas no escuro germinarão somente se um pulso de V suficiente para fotoconverter F_v a F_{ve} for fornecido. O mecanismo de reversão pode ocorrer se um subsequente pulso de VE for suficiente para reverter à forma inativa do fitocromo, inibindo a germinação (Figura 12). O fitocromo envolvido nesse tipo de resposta é phyB, sendo essa uma RBF. Desse modo, tanto mutantes de tomateiro quanto de *Arabidopsis* deficientes em phyB possuem baixa germinação, mesmo sob luz V.

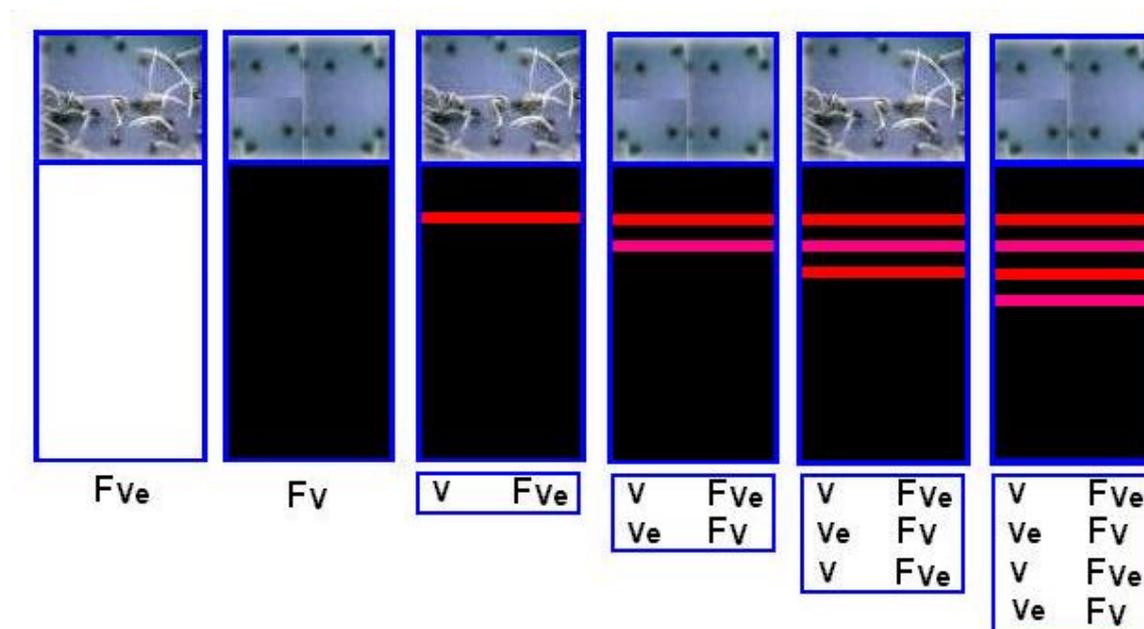


Figura 12: Sementes fotoblásticas positivas não germinam no escuro. O comprimento de onda do vermelho (V) promove a germinação de sementes no escuro, mas este efeito é revertido por comprimento de onda do vermelho-extremo (VE). O último pulso de luz durante o tratamento alternado entre V e VE determina a ocorrência da germinação. Essa é uma típica RFB mediada por phyB.

Os efeitos do fitocromo na ativação do embrião da semente podem resultar, como exemplo, na expressão de determinados genes, síntese de proteínas e mudanças nos níveis hormonais necessários para a germinação.

A floração de certas espécies vegetais é regulada pelo comprimento da noite

A periodicidade regular entre luz e escuro no desenvolvimento da planta é conhecida como **fotoperiodismo**. O efeito do fotoperíodo na floração é o aspecto mais evidente da presença ou ausência da luz sobre as mudanças dos padrões de desenvolvimento durante o ciclo de vida das angiospermas. Tanto o período de luz quanto o de escuro são necessários para ocorrer uma resposta. O desenvolvimento floral de muitas espécies depende do número de ciclos fotoperiódicos dados, contudo, outras espécies dependem somente da

temperatura, sem a necessidade de um estímulo fotoperiódico. Considerando um ciclo de 24 horas, as plantas que requerem um estímulo do fotoperíodo para florescerem podem ser divididas em dois grupos de acordo com os valores do fotoperíodo crítico: plantas de dia curto (**PDC**) e plantas de dia longo (**PDL**). O primeiro grupo de plantas florescem quando comprimento do dia for *menor* ou igual ao seu fotoperíodo crítico. PDL somente florescem quando o comprimento do dia for *maior* ou igual ao seu fotoperíodo crítico. Uma consequência dessa definição é que PDL conseguem florescer em luz contínua. **Fotoperíodo crítico** é o valor em horas diária de iluminação capaz de provocar a floração. No entanto, é o período de escuro que induz a floração. Por exemplo, PDL com fotoperíodo crítico igual 18 horas, deve florescer em períodos diários de iluminação superiores a 18 horas ou em períodos diários de escuro iguais ou inferiores a 6 horas (Figura 13). A importância da duração do período de escuro na floração pode ser confirmada interrompendo uma noite longa, a qual foi submetida uma planta de dia longo, com um breve período de luz, permitindo que ocorra a floração. Um período de escuro durante um período longo de luz não fará florescer uma planta de dia curto.

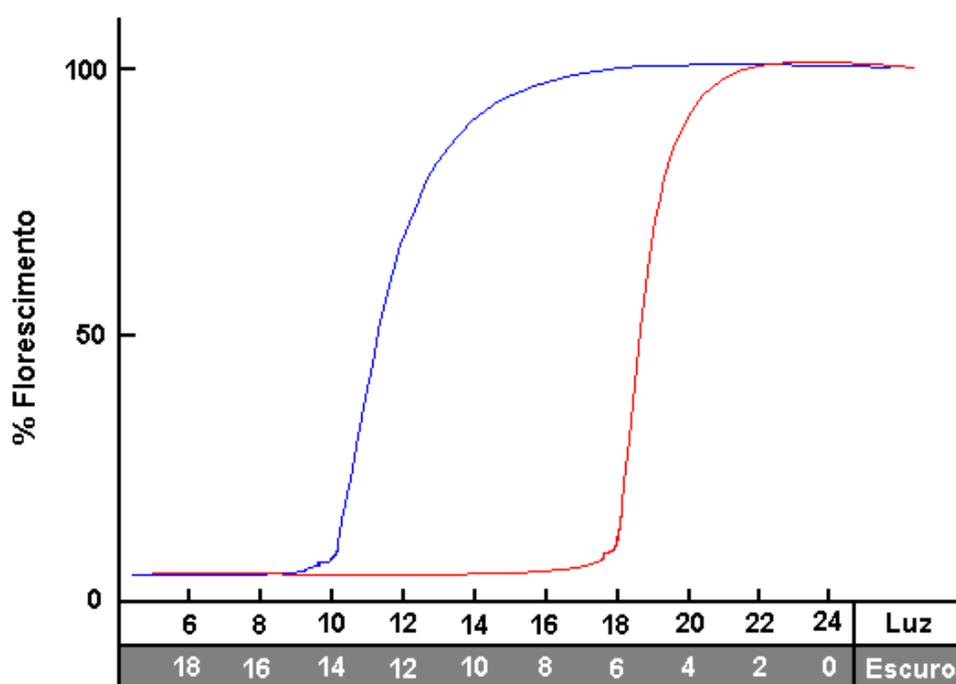


Figura 13: Florescimento em plantas de dia longo (PDL). Fotoperíodo críticos diferentes são mostrados pelas linhas azul e vermelha. As PDL representadas pela linha azul deverão florescer acima ou igual ao fotoperíodo crítico de 10 horas. PDL representadas pela linha vermelha deverão florescer acima ou igual ao fotoperíodo crítico de 18 horas. Note que para cada fotoperíodo crítico a duração de escuro completa o período de 24 horas.

A inibição da floração por noites interrompidas em plantas de dia curto foi um dos primeiros processos fisiológicos propostos estar sob controle do fitocromo (Borthwick et al. 1952). Em muitas PDC, a noite interrompida inibindo a floração torna-se efetiva somente quando a luz fornecida é suficiente para saturar a fotoconversão de Fv a Fve. O fitocromo total induzido por tratamento com V durante a interrupção da noite inibe a floração em PDC. A subsequente exposição ao VE reverte Fve a Fv, permitindo que ocorra a floração devido ao desaparecimento da saturação do fitocromo. A reversibilidade das formas do fitocromo

também tem sido observada em plantas PDL, nas quais a noite interrompida por V promove a floração, e a subsequente exposição ao VE inibe esta resposta (Figura 14).

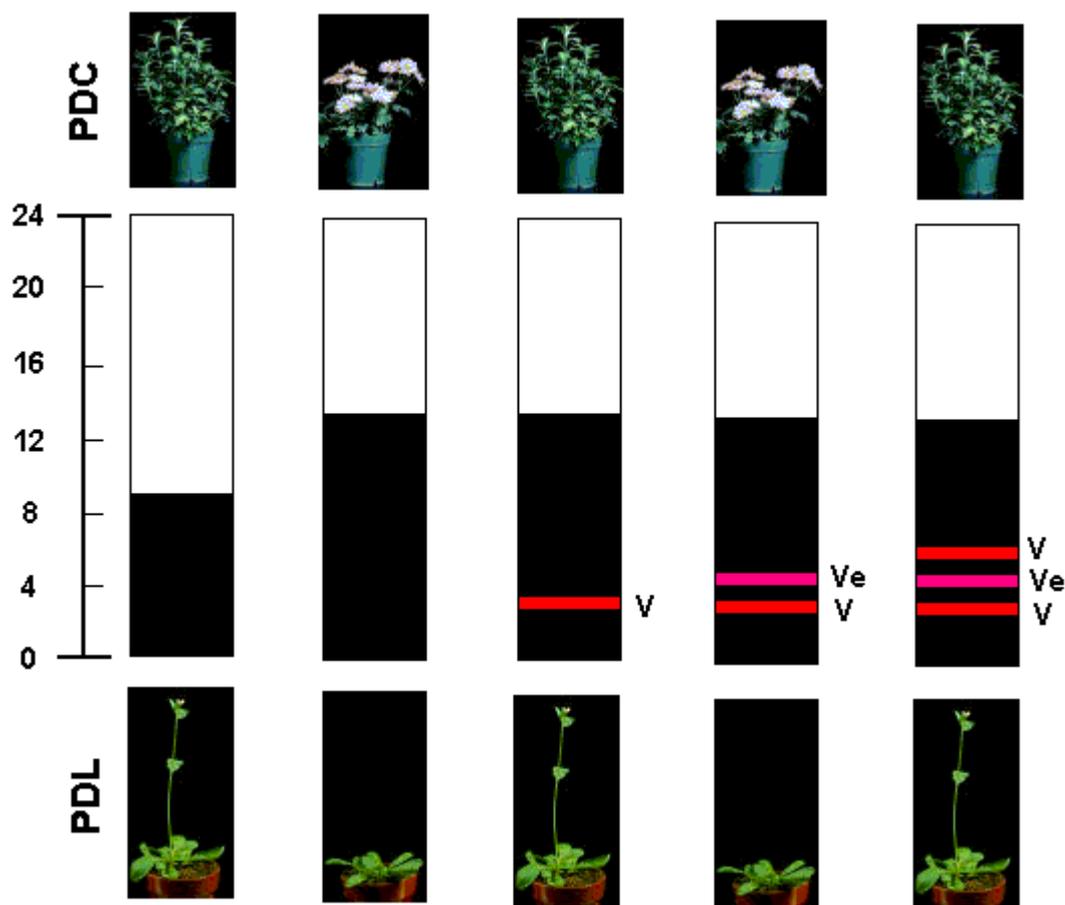


Figura 14: Controle da floração por luz V e VE. Interrompendo o período de escuro com um pulso de V, a floração é inibida em PDC (ex.: *Crisantemum*) e promovida em PDL (ex.: *Arabidopsis*). O efeito é revertido com um pulso de VE. O último pulso de luz durante o tratamento alternado entre V e VE determina a ocorrência da floração.

A indução da floração envolve a translocação de substâncias da folha para o ápice caulinar

Atualmente sabe-se que fitocromo do tipo I (phyA) é estimulador de floração e que o tipo II (phyB, C, D, E, F) é inibidor (Lin, 2000). Desse modo, em *Arabidopsis*, mutantes sem phyA possuem florescimento retardado e mutantes sem phyB, possuem florescimento acelerado. Uma das hipóteses é de que phyA seria um inibidor de uma substância (hormônio) que, por sua vez, inibiria a floração. É importante ressaltar que, embora a resposta fotoperiódica seja percebida na folha, a resposta da floração ocorre no ápice caulinar. Tal distribuição espacial requer a presença de substância inibidoras ou estimuladoras capazes de serem translocadas. Experimentos de enxertia confirmam a presença de tais substâncias (Figura 15). Esses experimentos levaram alguns pesquisadores, ainda na década de 30, a postularem a existência de um hormônio denominado florígeno. Muitas tentativas sem sucessos de isolar e caracterizar este hormônio “hipotético” têm sido realizadas no intuito de compreender os mecanismos de interação com fitocromos.

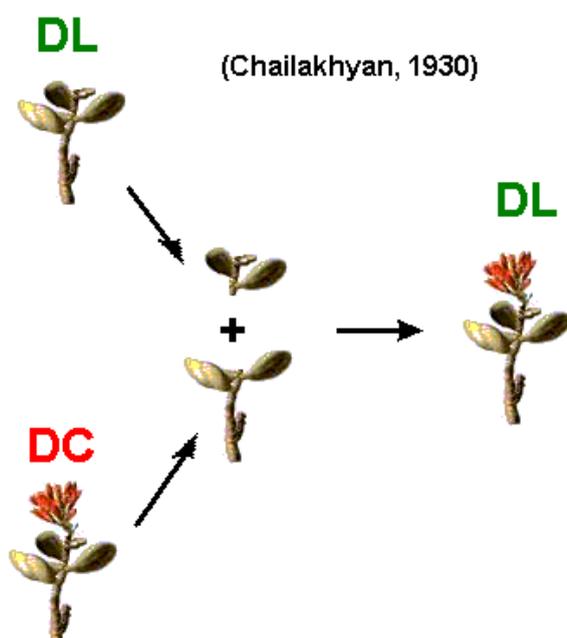


Figura 15: Experimento de enxertia sugerindo a existência do florígeno. Planta de dia curto (*Chalonkoe* sp.) mantida nessa condição (DC) floresce, o mesmo não ocorrendo com aquela mantida sob dia longo (DL). A enxertia do ápice caulinar da planta mantida sob dia DL na planta induzida por DC promove a conversão do ápice vegetativo em reprodutivo (florescimento), mesmo em condições de DL. Esse experimento sugere que uma substância (florígeno?) foi translocada, provavelmente através do floema, da planta induzida (fonte) para o ápice da planta não induzida (dreno).

Alguns candidatos a florígeno já apareceram ao longo de décadas, mas nenhum deles conseguiu perfazer todos os requisitos esperados. Como a aplicação do hormônio giberelina (GA) é capaz de promover floração em PDL mantidas em condições de DC, ele tem sido um candidato a florígeno (Bernier et al., 1988). Um fato interessante é que mutantes de *Arabidopsis* (uma PDL facultativa) incapazes de produzir GA são capazes de florescer em DL, mas não em DC. Contudo, o mesmo tipo de mutação em tomateiro, uma planta que não responde a fotoperíodo para florescimento, não causa alterações no florescimento. Análises genéticas têm demonstrado que existem genes específicos envolvidos na indução floral. Um desses genes é *LEAFY*, o qual foi isolado em mutantes de *Arabidopsis*. Plantas transgênicas de *Populus* sp. superexpressando o gene *LEAFY* floresceram com 8 meses de idade (Coupland, 1995), o que é surpreendente se considerarmos que essa espécie normalmente demora 8 anos para o primeiro florescimento. A constatação de que GA induz o gene *LEAFY* em *Arabidopsis* (Blázquez et al., 1998) reforça a idéia de que esse hormônio é importante para a floração em algumas espécies vegetais, mas é pouco provável que ele seja o florígeno. Recentemente, foi demonstrado que mRNAs são capazes de se translocarem via floema e alterarem o programa de desenvolvimento do ápice caulinar (Kim et al., 2001). Tal experimento leva à hipótese de que o chamado florígeno poderia ser o mRNA de uma gene estimulatório da floração, tal como o gene *LEAFY*.

V- FUNÇÃO ECOLÓGICA DO FITOCROMO

O fitocromo é importante para que as plantas possam competir pela luz nos ecossistemas

A interpretação dos sinais trazidos pela luz do ambiente e as adaptações morfogênicas pelas plantas implicam em uma significância ecológica particular dos fitocromos. Por exemplo, em um ambiente onde as plantas se desenvolvem sob baixa luminosidade, como sob o dossel de uma vegetação ou muito próximas uma das outras, a interação competitiva entre os indivíduos desta vegetação determina o estabelecimento e a sobrevivência das espécies. A competição pela luz em ambientes sombreados é um fator que predomina durante o desenvolvimento da planta até que ela possa se reproduzir. A habilidade

das plantas em ajustar seu desenvolvimento em resposta ao sombreamento requer mecanismos fotomorfogênicos inerentes às condições de luz disponíveis. As folhas que recobrem uma vegetação funcionam como um filtro de luz do ambiente, e os comprimentos de ondas que alcançam as camadas inferiores da vegetação possuem baixos níveis energéticos, prevalecendo menores proporções de V/VE, pois a quantidade de clorofila presente nas plantas absorve seletivamente a luz V, enquanto transmite VE, reduzindo a razão V/VE. Para perceber as características dos sinais da luz que chegam sob o dossel, as plantas utilizam-se de fotorreceptores capazes de programar as respostas fotomorfogênicas. Nesse caso, o fitocromo pode servir como um indicador do grau de sombreamento de uma planta por outras plantas. Com o aumento do sombreamento, os valores de V/VE decrescem, promovendo a fotoconversão do F_{ve} a F_v, e conseqüentemente os níveis de F_{ve}/F_{total} são reduzidos. Como resposta ao sombreamento e ao decréscimo nas proporções de F_{ve}/F_{total}, é possível observar nas plantas o alongamento do hipocótilo ou dos entrenós (estiolamento) e a baixa síntese de clorofila. A estratégia de alcançar maiores extensões no corpo da planta tem como objetivo adquirir melhor qualidade de luz presente em camadas superiores da vegetação.

As diferentes respostas de phyA e phyB ao VE e V, respectivamente, fornece à planta a habilidade de inibir o estiolamento. Portanto, a fotomorfogênese em ambientes sombreados depende de uma quantidade relativa de phyA e phyB, bem como do V e VE disponível. Na abertura de uma clareira de uma vegetação, onde o sol penetra intensamente com uma luz rica em V, a inibição do estiolamento é mediada primeiramente por phyB. O efeito de phyA na inibição do estiolamento ocorre se o comprimento de onda predominante for VE. Porém, considerando a instabilidade de phyA, o qual é degradado à medida que a intensidade luminosa aumenta, posteriormente a resposta passa a ser mediada por phyB (Figura 16).

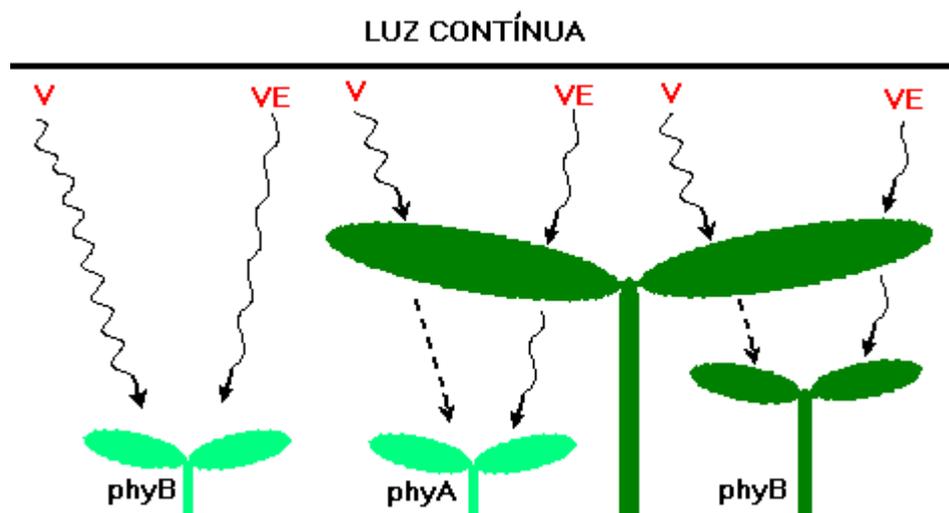


Figura 16: Efeitos de phyA e phyB na evitação à sombra. Plantas crescendo em clareiras (ambiente rico em luz V) acumulam preferencialmente phyB. Plantas em condições sombreadas (ambiente rico em luz VE) acumulam phyA. Como phyA é instável, ao ser degradado ele é posteriormente substituído por phyB. Modificado de Taiz & Zeiger (1998).

Espécies de sol e de sombra respondem de modo diferente à razão V/VE do ambiente

As respostas dos vegetais à quantidade de luz do ambiente variam muito entre as espécies. A maioria das plantas adaptadas à sombra (umbrófilas) não responde à diminuição da proporção F_{ve}/F_{total}, promovido pelo enriquecimento de VE (Figura 17). Por outro lado, aquelas plantas adaptadas ao sol e que, justamente por isso, possuem eficientes mecanismos para evitar a sombra precisam alocar reservas para o aumento do alongamento do entrenó. O

preço pago por esse gasto extra de reservas costuma ser a diminuição da área foliar e a inibição das gemas laterais.

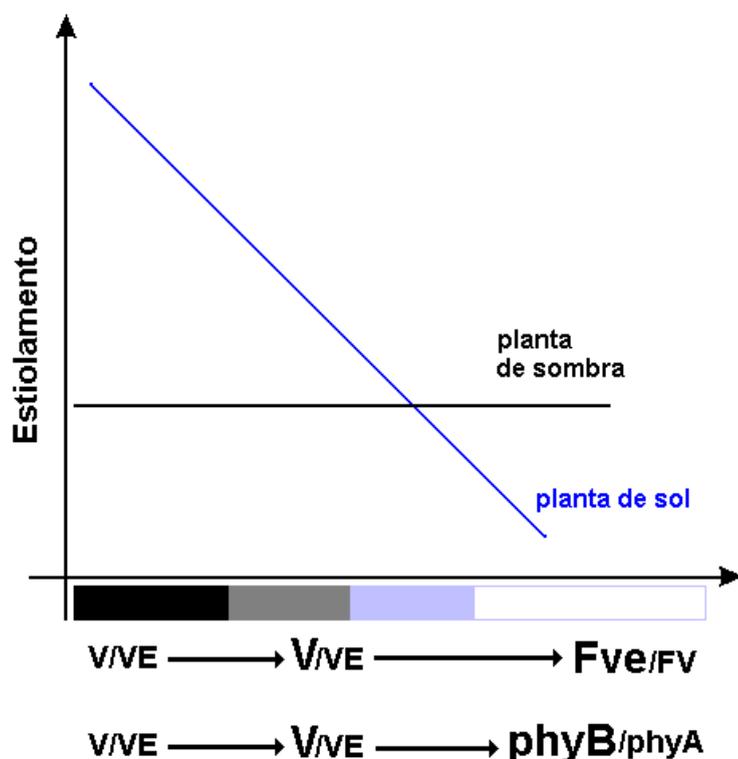


Figura 17: Plantas típicas de sol e de sombra respondem de modo diferente às mudanças na qualidade da luz. À medida que aumenta a radiação do tipo V, há um maior acúmulo da forma ativa do fitocromo (Fve), aumentando a razão Fve/Fv (ou Fve/Ftotal), o qual inibe o estiolamento das plantas de sol. As plantas de sombra, embora alterem as proporções das formas (Fv para Fve) e tipos (phyA para phyB) de fitocromo, não respondem com um correspondente estiolamento ou desestiolamento. Pode-se conjecturar que essas plantas possuem alterações na via de transdução de sinal do fitocromo.

A germinação dependente de fitocromo favorece o estabelecimento das ervas daninhas

Um outro interessante mecanismo ecológico envolvendo fitocromo é o aproveitamento da qualidade e duração da luz no processo de germinação de sementes de plantas daninhas. Essas plantas geralmente possuem sementes de tamanho pequeno e germinação dependente da luz. Tais sementes são facilmente dispersas e enterradas durante a preparação do solo para a agricultura. Sementes de plantas daninhas experimentam períodos prolongados de escuro sob o solo, até que, novas operações agrícolas que provocam o revolvimento do solo expõem um grande número destas sementes à luz. Como o revolvimento do solo para o plantio está associado com o emprego de adubos, torna-se muito compensatório para as plantas daninhas germinarem nessas condições. Diferente de outras sementes, um rápido feixe de luz é suficiente para induzir a germinação de quantidades significativas de sementes de ervas daninhas, um processo mediado por fitocromos. A habilidade dessas sementes em germinar sob breves feixes de luz é interpretada como uma transição dos modos de ação do fitocromo, de resposta de fluência baixa a resposta de fluência muito baixa. O phyA opera como uma antena na percepção do breve fornecimento da luz. Frequentemente, sementes de plantas daninhas que requerem breves exposições à luz para germinar não germinam quando expostas a períodos prolongados de intensa luminosidade, indicando que há necessidade de uma resposta de fluência muito baixa mediada por phyA.

VI – A LUZ E OS HORMÔNIOS VEGETAIS

Luz e hormônios controlam o desenvolvimento vegetal

Praticamente todos os eventos fisiológicos influenciados pela luz, e conseqüentemente pelos fotorreceptores, são conhecidos efeitos de diferentes classes hormonais, tais como auxina, citocinina, giberelina, ácido abscísico, etileno e brassinoesteróide. Nesse sentido, os hormônios vegetais regulam o alongamento caulinar, a germinação de sementes, a síntese de clorofia, o florescimento e a tuberização. Não obstante, até o presente tem se pouco conhecimento a cerca dos mecanismos envolvidos na interação entre hormônios vegetais e fotomorfogênese.

A inibição do alongamento celular por comprimentos de ondas do azul, vermelho e vermelho-extremo, mediadas por criptocromos e fitocromos, respectivamente, foi sugerida sofrer interações significativas com a auxina (AIA), apesar de não ser o único fator envolvido neste processo. O uso dos mutantes fotomorfogenéticos *fri* e *tri* de tomateiro, e dos duplos mutantes dos mesmos genótipos, confirmam o envolvimento de *phyA* e *phyB* na regulação dos níveis de auxina encontrados (Van Tuinen et al. 1995a; Kerckhoffs et al. 1996). Kraepial et al. (1995) estabeleceram correlações entre deficiência de fitocromo e altos níveis de auxina, utilizando mutantes de tabaco defectivos para síntese do cromóforo.

As relações entre ácido abscísico (ABA) e luz parecem ser muito complexas, devido às atividades sinérgicas e antagônicas entre estes dois fatores. Em mutantes de tabaco deficientes na síntese do cromóforo foram observados maiores acúmulos de ABA comparados aos do tipo selvagem.

O melhor processo fisiológico envolvendo luz e atividade hormonal, tem sido descrito para giberelinas (GAs). Embora luz e giberelinas controlem o alongamento do hipocótilo em algumas espécies, poucos estudos suportam a hipótese de que a luz aja alterando as atividades de GA. Entretanto, alterações nos níveis de fitocromo têm mostrado afetar os níveis de GA em tabaco. Quanto à germinação de sementes, embora GA seja um dos principais hormônios envolvidos, não há evidências de que a ação do fitocromo nesse processo seja mediada por GA.

As citocininas (Cks) e a luz causam efeitos similares na planta, como exemplo, no desenvolvimento dos cotilédones e das folhas, no controle da dominância apical e na diferenciação dos cloroplastos. A transcrição de numerosos genes do cloroplasto é induzida tanto pela luz quanto por Cks (Cohen et al. 1998; Bracale et al. 1998). Em mutantes de tabaco com alterações nos níveis de fitocromos, foi observada metade dos níveis de Cks comparados aos do tipo selvagem, sugerindo um controle dos níveis de Cks pela luz.

Em muitos casos, luz e etileno induzem respostas opostas na planta. A aplicação de etileno inibe os efeitos estimulatório da luz na taxa de expansão foliar em plântulas de ervilha. Os tratamentos com luz em tecidos estiolados são freqüentemente seguidos por um decréscimo nos níveis de etileno. Este último efeito tem sido particularmente estudado em tecido do gancho plumular de feijoeiro. O etileno promove a manutenção do gancho plumular enquanto a luz promove a abertura, diminuindo a produção de etileno. As mudanças no metabolismo da planta envolvendo luz e etileno, mediadas por fotorreceptores, ainda permanecem obscuras.

Os hormônios brassinoesteróides parecem estar diretamente envolvidos na fotomorfogênese

Os brassinoesteróides (BRs) são hormônios necessários para que haja um alongamento dos caules (estiolamento) na ausência da luz, devido ao estímulo da expansão celular. Evidências para isso são o fato de muitos mutantes que não estiolam na ausência da luz possuírem alterações na biossíntese de BR. Mutantes com deficiência nos níveis de BR já foram caracterizados em *Arabidopsis* (Li et al., 1996); arroz (Mori et al., 2002) e tomateiro (Bishop et al., 1999) (Figura 18). Dependendo da espécie e da severidade das mutações, alguns mutantes cultivados no escuro apresentam características de plantas que se

desenvolvem sob luz, como expansão do cotilédone, abertura do gancho plumular e expressão normal de genes regulados pela luz. Em outras palavras, os mutantes sem BR costumam possuir fenótipo oposto ao dos mutantes sem fitocromo. Desse modo, enquanto os mutantes sem BR tendem a ser desestiolados no escuro (Figura 18), os mutantes sem fitocromo apresentam-se estiolados mesmo no claro (Figura 8). As vias metabólicas dependentes da expressão de genes envolvidos na regulação das características dos mutantes em BR possivelmente estão associadas aos mecanismos de atividades de fotorreceptores. Portanto, as evidências de como os fotorreceptores participam da sinalização dos eventos de inibição e estímulo das respostas aos BRs necessitam ser elucidadas para uma melhor compreensão do modo de ação dos fitocromos.



Figura 18: Fenótipo do mutante de tomateiro deficiente em brassinoesteróide (*dwarf*). Planta do mutante crescida no escuro (A) apresenta o comprimento do hipocótilo semelhante ao da planta crescida sob luz (B). Enquanto o tipo selvagem (WT) estiola no escuro, o mutante *dwarf* apresenta-se desestiolado. Essa constatação sugere que os brassinoesteróides sejam essenciais para o estiolamento, sendo a luz um inibidor de sua biossíntese ou ação.

Apesar dos esforços em compreender as relações entre luz e hormônios, muito ainda necessita ser desvendado. Em suma, alguns efeitos da luz podem ser amplificados ou restringidos por hormônios vegetais, e mudanças significativas dessas substâncias frequentemente ocorrem após os tratamentos com luz. Entretanto, não está claro o envolvimento direto de fotorreceptores e hormônios em muitos eventos que ocorrem na planta.

VII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNIER, G. The control of floral evocation and morphogenesis. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, 39:175-219, 1988.

BISHOP, G. J.; NOMURA, T.; YOKOTA, T.; HARRISON K.; NOGUCHI, T.; FUJIOKA, S.; TAKATSUTO, S.; JONES, J. D. G. & KAMIYA, Y. The tomato *DWARF* enzyme

- catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 96:1761-1766, 1999.
- BLÁZQUEZ, M. A.; GREEN, R.; NILSON, O.; SUSSMAN, M. R. & WEIGEL, D. Gibberellins promote flowering of *Arabidopsis* by activating the *LEAFY* promoter. **Plant Cell**, 10:791-800, 1998.
- BORTHWICK, H. A., HENDRICKS, S. B., PARKER, N. W. The reaction controlling floral initiation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 38, p. 929-934, 1952.
- BRACALE, M.; LONGO, G. P.; ROSSI, G. & LONGO, G. P. Early changes in morphology and polypeptide pattern of plastids from watermelon cotyledons induced by benzyladenine or light are very similar. **Physiologia Plantarum**. V. 72, p. 94-100. 1998.
- CASAL, J. J.; SANCHEZ, R. A.; BOTTO, J. F. Modes of action of phytochrome. **Journal of Experimental Botany**. v. 49, p. 127-138, 1998.
- COHEN, L.; ARZEE, T.; ZILBERSTEIN, A. Mimicry by cytokinin of Phytochrome-regulated inhibition of chloroplast development in etiolated cucumber cotyledons. **Physiologia Plantarum**, v. 72, p. 57-64, 1998.
- COUPLAND, G. *LEAFY* blooms in aspen. **Nature**, 377:482-483, 1995.
- HUGHES, J.; LAMPARTER, T.; MITTMANN, F.; HARTMANN, E.; GARTNER, W.; WILDE, A. & BORNER, T. A prokaryotic phytochrome. **Nature**, v. 386, p. 663-, 1997.
- KENDRICK, R.E. & GEORGHIOU, K. The germination characteristics of phytochrome-deficient *aurea* mutant tomato seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 82, p. 127-133, 1991.
- KENDRICK, R.E.; PETERS, J.L.; KERCKHOFFS, L.H.J.; VAN TUINEN, A.; AND KOORNNEEF, M. Photomorphogenic mutants of tomato. **Biochemical Society Symposia**, v. 60, p. 249-256. 1994.
- KENDRICK, R.E.; KRONENBERG, G.H.M. (Ed.). **Photomorphogenesis in Plants**. 2nd ed. Dordrecht: Academic Publishers, 1994.
- KERCKHOFFS, L.H.J.; N.A.M.A. DE GROOT, A.; VAN TUINEN, M.E.L.; SCHREUDER, A.; NAGATANI, M. KOORNNEEF.; KENDRICK R.E. Physiological characterization of exaggerated-photoresponse mutants of tomato. **Journal of Plant Physiology**, v. 150, p. 578-587, 1997.
- KERCKHOFFS, L.H.J.; VAN TUINEN, M.E.L.; HAUSER, B.A.; CODONNIER-PRATT, M. M.; NAGATANI, A.; KOORNNEEF, M.; PRATT, L. H. & KENDRICK, R.E. Molecular analysis of tri-mutant alleles in tomato indicates the *TRI* locus is the gene encoding the apoprotein of phytochrome B1. **Planta**, v. 199, p. 152-157, 1996.
- KIM, M.; CANIO, W.; KESSLER, S. & SINHA, N. Developmental changes due to long-distance movement of a homeobox fusion transcript in tomato. **Science**, 293:287-289, 2001.

- KRAEPIEL, Y.; MARREC, K.; SOTTA, B.; CABOCHE, M. & MIGINIAC, E. *In vitro* morphogenic characteristics of phytochrome mutants in *Nicotiana plumbaginifolia* are modified and correlated to high indole-3-acetic acid levels. **Planta**, v. 197, 9142-147, 1995.
- LI, J.; NAGPAL, P.; VITART, V.; McMORRIS, T. C. & CHORY, J. A role for brassinosteroids in light-dependent development of *Arabidopsis*. **Science**, 272: 398-401, 1996.
- LIN, C. Photoreceptors and regulation of flowering time. **Plant Physiol.**, 123:39-50, 2000.
- MORI, M.; NOMURA, T.; OOKA, H.; ISHIZAKA, M.; YOKOTA, T.; SUGIMOTO, K.; OKABE, K.; KAJIWARA, H.; SATOH, K.; YAMAMOTO, K.; HIROCHIKA, H.; KIKUCHI, S. Isolation and characterization of a rice dwarf mutant with a defect in brassinosteroid biosynthesis. **Plant Physiol.**, 130: 1152–1161, 2002.
- PRATT, L. H.; CODONNIER-PRATT, M. M.; KELMENSON, P. M.; LAZAROVA, G. I. & ALBA, R. M. The phytochrome gene family in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Plant, Cell and Environment**. v. 20, p. 672-677, 1997.
- SHARROCK, R.A., QUAIL P. H. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. **Genes & Dev**. 3, p. 1745-1757, 1989.
- VAN TUINEN, A.; KERCKHOFFS, L.H.J.; NAGATANI, A.; KENDRICK R.E.; KOORNNEEF, M. Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficiente mutants of tomato. **Molecular and General Genetics**, v. 246, p. 133-141, 1995a.
- VAN TUINEN, A.; KERCKHOFFS, L.H.J.; NAGATANI, A.; KENDRICK R.E.; KOORNNEEF, M. A temporary red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. **Plant Physiology**. v. 108, p. 939-957, 1995b.