

Scarlet Santos Monteiro

**Alelos constitutivamente ativos dos
fitocromos B1 e B2 e seus impactos sobre o
desenvolvimento vegetativo e reprodutivo
de tomateiro**

*Constitutively active alleles of phytochromes B1
and B2 and their impacts on tomato vegetative
and reproductive development*



São Paulo

2022

Universidade de São Paulo
Instituto de Biociências

Scarlet Santos Monteiro

**Alelos constitutivamente ativos dos
fitocromos B1 e B2 e seus impactos sobre o
desenvolvimento vegetativo e reprodutivo
de tomateiro**

*Constitutively active alleles of phytochromes B1
and B2 and their impacts on tomato vegetative
and reproductive development*

São Paulo

2022

Scarlet Santos Monteiro

**Alelos constitutivamente ativos dos
fitocromos B1 e B2 e seus impactos sobre o
desenvolvimento vegetativo e reprodutivo
de tomateiro**

*Constitutively active alleles of phytochromes B1
and B2 and their impacts on tomato vegetative
and reproductive development*

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Mestre em Ciências, na Área de
Botânica.

Orientador: Dr. Luciano Freschi

São Paulo

2022

Ficha Catalográfica

Monteiro, Scarlet Santos

Alelos constitutivamente ativos dos fitocromos B1 e B2 e seus impactos sobre o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de tomateiro / Scarlet Santos Monteiro ; orientador Luciano Freschi -- São Paulo, 2022.

128 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

1. Fitocromo. 2. Fotomorfogênese. 3. Carotenoide. 4. Tocoferol . 5. Tomateiro . I. Freschi, Luciano , orient. II. Título.

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

“O sonho é que leva a gente para a frente.”

Ariano Suassuna (1927-2014)

Agradecimentos

Aos meus pais, Márcia e Vanderley, e à minha irmã, Nayara, por serem a minha base, por todo incentivo, carinho e amor, por acreditarem nos meus sonhos e vibrarem a cada conquista! Ao meu cunhado, Robson, pelo apoio ao longo dessa trajetória.

Ao meu orientador, Luciano Freschi, que intermediou o caminho para que eu descobrisse o fascinante mundo dos Fitocromos (PHY <3). Agradeço pelas conversas, que expandiram os meus horizontes acerca dos processos científicos; pela orientação e valiosos apontamentos ao longo desse processo e por sempre estar presente.

Aos professores, Igor Cesarino, Gilberto Kerbauy, Magdalena Rossi, Cláudia Furlan e Helenice Mercier, por compartilharem seus conhecimentos e por contribuírem para o meu desenvolvimento na área.

Aos colegas da Pós-Graduação, em especial ao Bruno, Daniele, Rafael, Frederico e Ricardo, pelas valiosas contribuições e pela generosidade em auxiliar nos procedimentos metodológicos. Aos colegas, Marcos, Renata, Marta, Patrícia, Letícia, Ana Z., Maria José e Lumi, pelos conhecimentos compartilhados e momentos vividos.

Às técnicas do Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal, Aline e Ana Maria, e aos bolsistas de treinamento técnico, pela disponibilidade e apoio, permitindo a realização dos experimentos.

À Universidade de São Paulo (USP), pelo suporte estrutural e, aos funcionários do Instituto de Biociências, pelo apoio técnico-administrativo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido na forma de bolsa de mestrado, processo nº 2018/25774-2.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta...

Obrigada!

Índice

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS.....	54

RESUMO

A luz modula o crescimento e o desenvolvimento da planta através de vias de fotopercepção orquestradas por fotorreceptores, dentre os quais destacam-se os fitocromos. Com base na identificação prévia de um alelo mutante Tyr₂₇₆His foto-insensível e constitutivamente ativo do fitocromo B (AtPHYB) em *Arabidopsis thaliana*, o presente estudo buscou explorar os impactos de alelos constitutivamente ativos de *PHYB* em tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Diferentemente de *A. thaliana*, o genoma de tomateiro possui dois genes *PHYB* (*SIPHYB1* e *SIPHYB2*), os quais exibem perfis de expressão distintos, sugerindo uma diversificação funcional. Estudos pioneiros conduzidos em tomateiro se dedicaram a investigar os impactos da perda de função ou silenciamento de *SIPHYB1/B2*, mas desconhecem-se as alterações fenotípicas atreladas à presença de alelos constitutivamente ativos de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* (*SIYHB1* e *SIYHB2*, respectivamente) ao longo do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo dessa espécie. Assim sendo, no presente trabalho, investigamos os impactos da sobre-expressão de *SIYHB1* ou *SIYHB2* sobre a fisiologia do tomateiro e a qualidade nutricional de seus frutos. Plantas transgênicas sobre-expressando *SIYHB1* ou *SIYHB2* exibiram crescimento em altura reduzido, atraso na liberação de gemas axilares, folhas com maior massa fresca, acentuado acúmulo de clorofila em diferentes órgãos (*i.e.*, folhas e frutos verdes), além de um atraso na indução de senescência foliar por idade, somado a um aparente atraso no florescimento e amadurecimento dos frutos. A sobre-expressão dos alelos *SIYHB1* ou *SIYHB2* também resultou em incrementos no acúmulo de compostos antioxidantes, tais como tocoferóis, β -caroteno e luteína dos frutos maduros, sendo essa alteração fenotípica mais expressiva em resposta à presença de *SIYHB2* do que *SIYHB1*. A produção de frutos foi ligeiramente reduzida nas plantas das linhagens sobre-expressando *SIYHB2*, entretanto os frutos vermelhos dessas linhagens apresentaram incrementos nos níveis de sólidos solúveis. Assim sendo, os dados obtidos sugerem que a sobre-expressão de alelos constitutivamente ativos de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* resultam em impactos similares no desenvolvimento vegetativo em tomateiro, ao passo que indícios

apontam para uma possível diferenciação funcional desses parálogos no que tange a produção, amadurecimento e qualidade nutricional de frutos.

Palavras-chave: Fitocromo. Fotomorfogênese. Carotenoide. Tocoferol. Tomateiro.

ABSTRACT

Light modulates plant growth and development through photosensing mechanisms initiated by photoreceptors, among which phytochromes play a central role. Based on the previous identification of a photoinsensitive and constitutively active Tyr₂₇₆His mutant allele of *Arabidopsis thaliana* phytochrome B (allele *AtYHB*), the present study aimed to investigate the impacts of constitutively active *PHYB* alleles in tomato (*Solanum lycopersicum*). Opposite to *A. thaliana*, the tomato genome harbors two *PHYB* genes (*SIPHYB1* and *SIPHYB2*), which exhibit distinct expression profiles, suggesting functional diversification. Pioneering studies conducted in tomato have focused on investigating the impacts of *SIPHYB1/B2* loss-of-function or silencing; however, the phenotypic alterations linked to the presence of constitutively active alleles of *SIPHYB1* and *SIPHYB2* (*SIYHB1* and *SIYHB2*, respectively) during tomato vegetative and reproductive growth remains elusive. Therefore, here, the impacts of *SIYHB1* or *SIYHB2* overexpression on tomato physiology and the nutritional quality of its fruits were investigated. Transgenic plants overexpressing *SIYHB1* or *SIYHB2* displayed reduced shoot height, delayed axillary bud outgrowth, heavier leaves, overaccumulation of chlorophyll in different organs (*i.e.*, leaves and green fruits), as well as delayed flowering transition, fruit ripening and age-induced leaf senescence. *SIYHB1* or *SIYHB2* overexpression also promoted the accumulation of antioxidant compounds, such as tocopherols, β -carotene and lutein, in the ripe fruits, a phenotype even more evident in response to *SIYHB2* than *SIYHB1*. Fruit production was slightly reduced in *SIYHB2*-overexpressing lines, though red ripe *SIYHB2* fruits exhibited increased total soluble solids. Therefore, the data obtained suggest that the overexpression of constitutively active *SIPHYB1* or *SIPHYB2* alleles results in similar phenotypical alterations during tomato vegetative development, whereas multiple pieces of evidence point to a possible functional diversification between these paralogs regarding tomato fruit production, ripening and nutritional quality.

Keywords: Phytochrome. Photomorphogenesis. Carotenoid. Tocopherol. Tomato.

INTRODUÇÃO GERAL

Mecanismos de percepção e transdução de sinais luminosos via fitocromos

Indispensável como fonte de energia para o processo fotossintético, a luz é igualmente imprescindível como fonte de sinais que regulam inúmeras facetas do desenvolvimento e metabolismo das plantas, incluindo germinação, desestiolamento, arquitetura vegetativa, tempo de floração, desenvolvimento e amadurecimento de frutos e senescência (ALVAREZ-BUYLLA et al., 2010; ARSOVSKI et al., 2012; BENTSINK; KOORNNEEF, 2008; CRUZ et al., 2018; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KAMI et al., 2010; QUINET et al., 2019; SAKURABA, 2021; SULLIVAN; DENG, 2003; XU et al., 2015).

Por afetar inúmeros processos da biologia vegetal, a luz consiste em um sinal crucial para o sucesso adaptativo das plantas em seus ambientes (KAMI et al., 2010; SULLIVAN; DENG, 2003; XU et al., 2015). As fotorrespostas são dependentes de sistemas refinados de captação e condução do sinal luminoso, através do ambiente celular, que se baseiam, essencialmente, em fotorreceptores (sensíveis a diferentes comprimentos de onda) e uma complexa rede de interações entre proteínas de transdução de sinal (CHORY, 2010; PAIK; HUQ, 2019). Assim, uma vez absorvido pelo fotorreceptor, o sinal luminoso é convertido em uma cascata molecular de sinais bioquímicos, mediada por componentes a jusante (*downstream*), que, em última instância, modulam uma ampla gama de respostas e permitem à planta se adaptar às condições ambientais (CHORY, 2010; PAIK; HUQ, 2019).

Nessa perspectiva, os fotorreceptores são vitais para a sobrevivência e sucesso reprodutivo das plantas no ambiente. São proteínas, tipicamente contendo um cofator ou cromóforo prostético, sensíveis a faixas específicas do espectro luminoso, cujas respostas *downstream* da percepção luminosa permitem que a célula vegetal monitore diferentes características do ambiente luminoso, incluindo o número de fótons por unidade de área (fluência luminosa), a taxa de fluência luminosa (irradiância), a composição espectral (qualidade

luminosa) e o período de exposição (CHORY, 2010; KAMI et al., 2010; MÖGLICH et al., 2010; PAIK; HUQ, 2019; SULLIVAN; DENG, 2003).

Os fotorreceptores são agrupados em cinco classes, segundo suas propriedades bioquímicas e de absorção de comprimentos de onda específicos (KAMI et al., 2010; LI; MATHEWS, 2016; MÖGLICH et al., 2010; PAIK; HUQ, 2019). Os fitocromos (*phytochrome*, PHY) são fotorreceptores que absorvem, especialmente, as luzes vermelha (660 nm) e vermelha distante (730nm) – *red* (R)/*far-red* (FR); os criptocromos (*cryptochromes*, CRY), as fototropinas (*phototropins*, PHOT) e as proteínas F-box (ZEITLUPE/ZTL, FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1/FKF1 e LOV KELCH protein 2/LKP2) absorvem luz azul/UV-A (320-500 nm) e o UVR8, absorve luz UV-B (280-320 nm) (BAE; CHOI, 2008; CHAVES et al., 2011; CHRISTIE, 2007; HEIJDE; ULM, 2012; ITO; SONG; IMAIZUMI, 2012; KAMI et al., 2010; PAIK; HUQ, 2019; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006).

Identificado na década de 50, a partir de extratos vegetais, o fitocromo foi o primeiro fotorreceptor a ser descrito (BORTHWICK, 1957; BUTLER et al., 1959; CHORY, 2010; MATHEWS, 2006). Os fitocromos são proteínas diméricas constituídas por duas apoproteínas (~1150 aminoácidos, cada) covalentemente ligadas à fitocromobilina (PΦB), um cromóforo tetrapirrólico linear responsável pela absorção do sinais luminosos (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021; LAGARIAS; MERCURIO, 1985; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019).

As apoproteínas são codificadas por famílias de genes *PHY*, que originam um número variável de fitocromos funcionais, dependendo da espécie vegetal, os quais podem possuir propriedades moleculares divergentes ou similares e funções sobrepostas ou específicas (ALBA et al., 2000; BAE; CHOI, 2008). No modelo *Arabidopsis thaliana*, a família multigênica dos fitocromos é composta por cinco genes (*AtPHYA*, *AtPHYB*, *AtPHYC*, *AtPHYD* e *AtPHYE*); igualmente, há cinco genes *PHY* no tomateiro *Solanum lycopersicum* (*SIPHYA*, *SIPHYB1*, *SIPHYB2*, *SIPHYE* e *SIPHYF*) e três, no arroz *Oryza sativa* (*OsPHYA*, *OsPHYB* e *OsPHYC*) (BAE; CHOI, 2008).

O cromóforo PΦB é sintetizado no interior do cloroplasto, a partir da redução da biliverdina pela fitocromobilina sintase (BURGIE; VIERSTRA, 2014). Após a biossíntese nos plastídios, o cromóforo é exportado para o citosol da célula e se liga, covalentemente, a um resíduo de cisteína da apoproteína, por meio de uma ligação tioéter (BURGIE; VIERSTRA, 2014; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006).

No citosol, os fitocromos são dimerizados sob a forma biologicamente inativa (Pr), permanecendo nessa configuração inativa sob condições de escuro (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; BUTLER et al., 1959; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006). Após exposição à luz vermelha curta, a fitocromobilina sofre uma fotoisomerização *Z-para-E* (reversível) na dupla ligação C15=C16, fazendo com que o fitocromo citosólico seja convertido em sua forma ativa (Pfr) que se acumula no núcleo da célula, onde passa a desempenhar seu papel regulatório (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; BUTLER et al., 1959; CHEN; SCHWAB; CHORY, 2003; NAGATANI, 2004; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006).

No núcleo, o fitocromo Pfr se acumula em estruturas sub-nucleares denominadas fotocorpos (*speckles*), onde interagem com elementos a jusante que, em última análise, resultam em alterações no desenvolvimento e metabolismo da planta em resposta à luz (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHEN; SCHWAB; CHORY, 2003; CHENG et al., 2021; HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; NAGATANI, 2004; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006).

A forma fotoativada do fitocromo (Pfr) é revertida ao estado inativo inicial (Pr) quando exposta à luz no comprimento de onda do vermelho-distante (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; BUTLER et al., 1959; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006). A reversão de Pfr-para-Pr também ocorre em ausência de luz (*dark reversion*), por relaxamento térmico (*thermal reversion*), conforme observado para AtPHYB (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CASAL; BALASUBRAMANIAN, 2019; CHENG et al., 2021; JUNG et al., 2016; LEGRIS et al., 2016).

Dada a natureza policromática da luz, a disponibilidade de ambos os espectros de absorção do fitocromo (R e FR) modula a razão entre as formas ativa:inativa do fitocromo (Pfr:Pr, respectivamente), resultando em um fotoequilíbrio distinto entre Pr e Pfr, a depender das condições luminosas no ambiente (FRANKLIN; QUAIL, 2010; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006). Portanto, os fitocromos desempenham um papel de sensor da proporção de R:FR no ambiente, de modo que altas razões R:FR induzem um acúmulo de fitocromos ativos (Pfr), ao passo que baixas razão R:FR (como em ambientes sombreados), promovem níveis elevados da forma inativa (Pr desse fotorreceptor (FRANKLIN; QUAIL, 2010; ROCKWELL; SU; LAGARIAS, 2006).

Em termos de estrutura proteica, o fitocromo organiza-se em dois módulos, interconectados por uma alça móvel: o módulo fotossensorial N-terminal e o módulo de saída C-terminal (Figura 1) (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021). O módulo fotossensorial N-terminal é constituído por uma extensão N-terminal (NTE), seguida de um domínio PAS (*Period/Arnt/Single-Minded*), um domínio GAF (*cGMP phosphodiesterase/adenylyl cyclase/Fh1A*), que se liga ao cromóforo PΦB, e um domínio PHY-específico (PHY). Já o módulo de saída C-terminal é formado por dois domínios de repetição de PAS (*PAS-repeat domain*, PRD) e um domínio relacionado à histidina quinase (*Histidine kinase-related domain*, HKRD) (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021; HOANG; HAN; KIM, 2019).

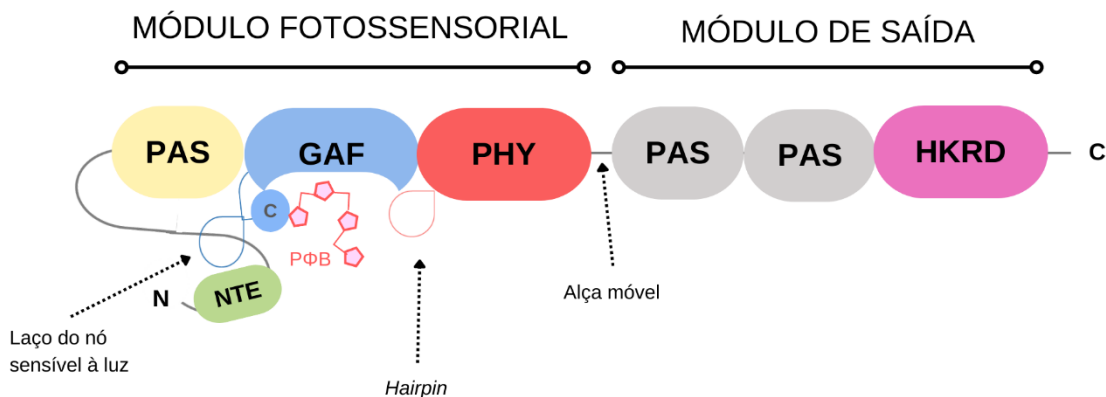


Figura 1 – O fitocromo está estruturado em dois módulos: fotossensorial N-terminal e de saída C-terminal, conectados por uma alça móvel. Os domínios de cada módulo, com as respectivas funções, estão detalhados no texto. Siglas: NTE, extensão N-terminal; PAS,

Period/Arnt/Single-Minded; GAF, *cGMP phosphodiesterase/adenylyl cyclase/Fh1A*; PΦB, cromóforo fitocromobilina ligado ao resíduo de cisteína, representado pela letra C; PHY, PHY-específico; HKRD, domínio relacionado à histidina quinase. Fonte: Adaptado de Cheng et al. (2021).

O módulo fotossensorial N-terminal apresenta propriedades fotoquímicas mediadas pelo cromóforo PΦB que se torna ativo em presença do sinal luminoso e desencadeia uma série de alterações conformacionais em ambos os módulos do fitocromo (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014). O NTE é variável entre as diferentes isoformas de PHY e relaciona-se com a estabilidade e sinalização do fitocromo ativo (Pfr) (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHERRY et al., 1992). Os domínios PAS e GAF apresentam atividade de bilina-liase necessária à incorporação do cromóforo PΦB a um resíduo de cisteína (Cys) conservado do domínio GAF, enquanto que o domínio PHY é fundamental para a estabilidade da forma Pfr fotoativada e a propagação do sinal luminoso para o módulo de saída C-terminal da apoproteína (BAE; CHOI, 2008; BURGIE; VIERSTRA, 2014; ESSEN; MAILLIET; HUGHES, 2008; HOANG; HAN; KIM, 2019; NAGANO, 2016; ULIJASZ et al., 2010).

O módulo de saída C-terminal apresenta atividades de dimerização, importação/localização nuclear em fotocorpos e interação com componentes *downstream* na via de sinalização luminosa (CHEN et al., 2005; MATSUSHITA; MOCHIZUKI; NAGATANI, 2003; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; SETHE BURGIE et al., 2017). O domínio HKRD promove a dimerização e medeia a importação nuclear e a localização em fotocorpos no núcleo da célula vegetal, enquanto que o domínio PRD desempenha um papel importante na reversão térmica (CHENG et al., 2021; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; SETHE BURGIE et al., 2017).

A fotoativação do fitocromo (Pr-para-Pfr), desencadeada pela excitação do cromóforo pela luz R, promove a alteração conformacional de uma estrutura denominada *hairpin* que se projeta a partir do domínio PHY, em direção ao cromóforo PΦB (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; NAGANO, 2016). O *hairpin* sofre uma transição de folha β-para-α hélice que, por sua vez, afeta o “laço do nó sensível à luz”, um nó em forma de oito na interface entre os domínios PAS e GAF, que une esses

domínios (PAS-GAF), na medida em que separa os domínios PHY de cada monômero (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; NAGANO, 2016; SONG et al., 2018).

Durante a fotoconversão do fitocromo para a forma Pfr, as mudanças conformacionais evidenciadas nos domínios do módulo fotossensorial se estendem também ao módulo de saída C-terminal que sofre um rearranjo estrutural, culminando com a translocação do fitocromo ativo para o núcleo da célula (BURGIE; VIERSTRA, 2014; CHENG et al., 2021; HUQ; AL-SADY; QUAIL, 2003; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; MATSUSHITA; MOCHIZUKI; NAGATANI, 2003). A translocação do fitocromo Pfr para o núcleo tem sido proposta como sendo necessária para a função biológica desse fotorreceptor (CHEN; CHORY, 2011; HILTBRUNNER et al., 2005; HOANG; HAN; KIM, 2019; HUQ; AL-SADY; QUAIL, 2003; KLOSE et al., 2015; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; MATSUSHITA; MOCHIZUKI; NAGATANI, 2003).

A importação nuclear de PHYA é dependente de proteínas que apresentam sequência de localização nuclear (NLS), tais como FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL 1 (FHY1) e FHY1-LIKE (FHL) (HILTBRUNNER et al., 2006; KLOSE et al., 2015; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019). Contudo, para os demais fitocromos (PHYB-PHYE) esse mecanismo de internalização permanece pouco compreendido. O processo de translocação de PHYB foi associado ao NLS situado no módulo de saída C-terminal desse fotorreceptor, mas também a PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF), fatores de transcrição cruciais das rotas de sinalização dos fitocromos (CHEN et al., 2005; KLOSE et al., 2015; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PFEIFFER et al., 2012; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018).

Os fitocromos fotoativados (Pfr) se acumulam no núcleo em fotocorpos, onde interagem com várias famílias de fatores de transcrição (FT), com destaque para as PIFs, e o complexo E3 ubiquitina-ligase CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC 1/SUPPRESSOR OF PHYA-105 (COP1/SPA1), promovendo, assim, uma alteração global na transcrição gênica em resposta ao sinal luminoso (CHEN; CHORY, 2011; CHENG et al., 2021; LEGRIS; INCE;

FANKHAUSER, 2019; LEIVAR; MONTE, 2014; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; PODOLEC; ULM, 2018; SHI et al., 2018).

Além de mediar uma reprogramação transcricional completa que afeta respostas tardias de desenvolvimento, o fitocromo ativo também parece estar associado a respostas extremamente rápidas e, aparentemente, impossíveis de serem explicadas através da regulação da expressão gênica, como a fotomodulação de potenciais de membrana (CHEN et al., 2012; HOANG; HAN; KIM, 2019; WANG et al., 2010). Conforme observado em *A. thaliana*, AtPHYB regula a abertura estomática em resposta à luz R, juntamente com fitocromo A, criptocromos e fototropinas (WANG et al., 2010). Sugere-se que essa resposta seja induzida pela ativação da H⁺-ATPase com a promoção de mudanças no potencial de membrana, mas os mecanismos por trás dessa regulação ainda foram pouco explorados (CHEN et al., 2012; WANG et al., 2010).

Apesar dessas evidências esparsas, indicativas de uma possível atuação citosólica, o principal mecanismo de ação dos fitocromos Pfr na via de sinalização luminosa em plantas parece estar relacionado ao controle da expressão gênica no núcleo, sendo que esse processo tem sido largamente investigado quanto ao estabelecimento da fotomorfogênese (CHENG et al., 2021; HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; TRIPATHI et al., 2019).

A depender da disponibilidade luminosa, a plântula recém germinada pode apresentar dois programas antagônicos de desenvolvimento: a escotomorfogênese ou a fotomorfogênese (ARSOVSKI et al., 2012; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018). Na ausência da luz, evidencia-se a escotomorfogênese, com o desenvolvimento de plântulas estioladas, que no caso das eudicotiledôneas, caracteriza-se pela presença de um gancho apical, cotilédones não expandidos, hipocótilos alongados, plastídios pouco desenvolvidos e com ausência dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenoides) (ARSOVSKI et al., 2012; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; XU et al., 2015). Em contrapartida, a transição de uma plântula estiolada para um fenótipo desestiolado caracteriza-se pela abertura do gancho apical, expansão de cotilédones, redução nas taxas de alongamento celular nos hipocótilos,

diferenciação de cloroplastos e síntese de pigmentos fotossintéticos (ARSOVSKI et al., 2012; XU et al., 2015). Por ser um desenvolvimento orquestrado pelo sinal luminoso, a fotomorfogênese torna-se imprescindível ao ajuste da plântula à captação da luz e ao crescimento fotoautotrófico (ARSOVSKI et al., 2012; CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004; XU et al., 2015).

O mecanismo de ação dos fitocromos durante a indução da fotomorfogênese em plântulas tem sido extensivamente estudado, especialmente em espécies modelo como *A. thaliana*, e será descrito a seguir (Figura 2). Em condições de escuro, os fitocromos são dimerizados em sua forma inativa (Pr) no citosol da célula, enquanto que, no núcleo, as proteínas PIFs e o complexo COP1/SPA1 atuam como reguladores negativos centrais da sinalização luminosa, reprimindo os eventos de fotomorfogênese, e portanto, promovendo o crescimento escotomorfogênico com a manutenção do fenótipo estiolado da plântula (Figura 2A) (HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; TRIPATHI et al., 2019; XU et al., 2015).

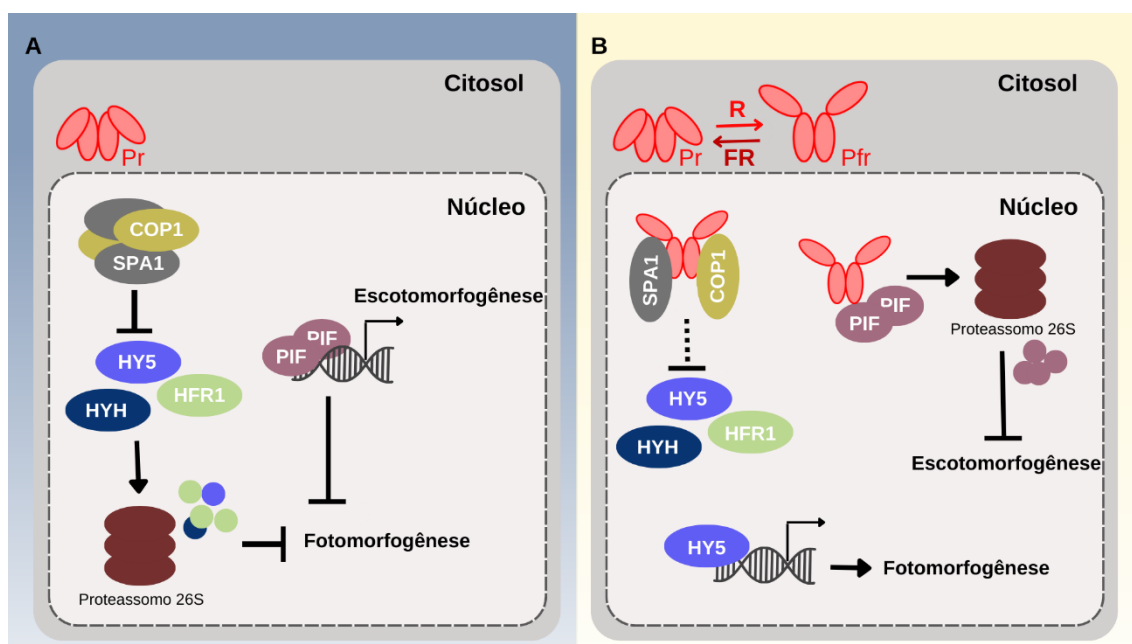


Figura 2 – Mecanismo da sinalização luminosa do fitocromo durante a transição do crescimento escotomorfogênico para o fotomorfogênico. (A) No escuro, o fitocromo encontra-se inativo (Pr) no citosol da célula. No núcleo, o complexo COP1/SPA1 induz a degradação de reguladores positivos da fotomorfogênese (HY5, HYH, HFR1, etc.), via proteassomo 26S, enquanto as PIFs induzem a transcrição de genes de escotomorfogênese e a repressão de genes relacionados à fotomorfogênese. (B) Em presença de luz vermelha curta, o

fitocromo se torna ativo (Pfr) e é translocado para o núcleo da célula, mediando a dissociação de COP1/SPA1 e a degradação proteossômica das PIFs. Consequentemente, a escotomorfogênese é reprimida, enquanto genes relacionados à fotomorfogênese são transcritos, culminando com a aquisição de crescimento fotomorfogênico. Siglas: R (*red*), luz no comprimento de onda do vermelho curto; FR (*far-red*), luz no comprimento de onda do vermelho distante; Pr, fitocromo inativo; Pfr, fitocromo ativo; COP1, CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC 1; SPA1, SUPPRESSOR OF PHYA-105; HY5, ELONGATED HYPOCOTYL 5; HYH, HY5-HOMOLOG; HFR1, LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1; PIF, PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR. Fonte: Adaptado de Xu et al. (2015).

As PIFs reprimem a transcrição de genes indutores de respostas fotomorfogênicas e induzem a expressão de genes que promovem a manutenção do fenótipo escotomorfogênico (HOANG; HAN; KIM, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; TRIPATHI et al., 2019). O complexo COP1/SPA1, por sua vez, degrada reguladores positivos da fotomorfogênese através do proteassomo 26S, incluindo os fatores de transcrição ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), HY5-HOMOLOG (HYH), LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1 (HFR1), LONG AFTER FAR-RED LIGHT 1 (LAF1), proteínas contendo domínio B-box (BBX) como a BBX28, entre outros (HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; TRIPATHI et al., 2019; XU et al., 2015).

Peça-chave na regulação do desenvolvimento dependente de luz, o HY5 é um fator de transcrição do tipo bZIP que atua a jusante de diferentes fotorreceptores, incluindo os fitocromos (LEE et al., 2007; XIAO et al., 2021). O HY5 opera em conjunto com as proteínas BBXs na via de sinalização luminosa (GANGAPPA; BOTTO, 2014, 2016; XIAO et al., 2021). De maneira simplificada, as BBXs podem controlar a atividade e a transcrição do HY5 que, por sua vez, é capaz de regular a expressão das BBXs (GANGAPPA; BOTTO, 2014, 2016; XIAO et al., 2021). Através dessa complexa rede de interações entre o HY5 e as BBXs e outras vias de sinalização, incluindo vias hormonais, as respostas fotomorfogênicas são estabelecidas na plântula em desenvolvimento (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; GANGAPPA; BOTTO, 2014, 2016; XIAO et al., 2021).

No núcleo, o fitocromo Pfr interage fisicamente com as PIFs, induzindo a fosforilação e a posterior degradação via proteassomo 26S, além da dissociação do complexo COP1/SPA1, com a consequente exportação de COP1 para o citosol da célula (Figura 2B) (HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE;

FANKHAUSER, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; SHIN et al., 2016; TRIPATHI et al., 2019; XU et al., 2015). A remoção de repressores fotomorfogênicos, induzida por fitocromos ativos, possibilita o acúmulo de reguladores positivos da sinalização luminosa, com destaque para o HY5 (HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; TRIPATHI et al., 2019). A abundância do HY5 no núcleo regula a expressão de genes-alvo (Figura 2B), os quais resultam em modificações no crescimento e desenvolvimento em resposta à luz, incluindo a fotomorfogênese, síndrome de evitação de sombra, transição floral e desenvolvimento e amadurecimento de frutos (GANGAPPA; BOTTO, 2016; WANG et al., 2021; XIAO et al., 2021).

Em suma, o fitocromo é um componente central para o estabelecimento de respostas à luz, atuando a montante (*upstream*) na via de sinalização luminosa como um regulador mestre do acúmulo de componentes integradores (PIF, COP1/SPA1) e efetores (HY5) do sinal luminoso que resulta, em última instância, em alterações na transcrição gênica global da planta modulando o seu desenvolvimento (HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; TRIPATHI et al., 2019; XU et al., 2015).

Os fitocromos desempenham papéis multifacetados ao longo do ciclo de vida da planta

Desde a sua caracterização, os fitocromos têm sido amplamente explorados em relação ao seu papel fisiológico nas respostas à luz (BORTHWICK, 1957; BORTHWICK et al., 1952, 1954; BUTLER et al., 1959). Nesse cenário, as PIFs, componentes a jusante da sinalização de PHY, também vêm sendo largamente estudadas (CHENG et al., 2021; HOANG; HAN; KIM, 2019; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; TRIPATHI et al., 2019).

As proteínas PIF são fatores de transcrição com um domínio hélice-alça-hélice básico (bHLH) e codificadas por oito genes em *A. thaliana* (*AtPIF1-AtPIF8*) e em tomateiro (*SIPIF1a*, *SIPIF1b*, *SIPIF3*, *SIPIF4*, *SIPIF7a*, *SIPIF7b*, *SIPIF8a* e

SIPIF8b) (LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; ROSADO et al., 2016).

A interação PIF-Pfr ocorre através de domínios de ligação a PHYA (*active phytochrome A-binding domain*, APA) e a PHYB (*active phytochrome B-binding domain*, APB), dispostos na estrutura molecular do fator de transcrição (LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; ROSADO et al., 2016). No modelo *A. thaliana*, todas as PIFs possuem o domínio de ligação APB, sendo que o domínio APA está presente apenas em AtPIF1 e AtPIF3 (LEIVAR; MONTE, 2014; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018). De modo conservado, todas as PIFs em tomateiro apresentam um motivo de ligação a PHYB (APB) e apenas SIPIF1a, SIPIF1b e SIPIF3 exibem um domínio de ligação ao fitocromo A (APA) (ROSADO et al., 2016).

Os fitocromos controlam vários aspectos de crescimento e desenvolvimento das plantas e a ação desses fotorreceptores pode se dar de forma isolada ou em conjunto com outros fotorreceptores, desencadeando uma resposta local na célula ou se estendendo a longas distâncias (a nível de planta inteira) através da regulação, pela luz, do metabolismo e distribuição de hormônios (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KAMI et al., 2010; KIRCHENBAUER et al., 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; LEGRIS; INCE; FANKHAUSER, 2019; PIERIK; DE WIT, 2014; TRIPATHI et al., 2019).

PHYA e PHYB são as formas do fitocromo melhor investigadas e caracterizadas (FRANKLIN; QUAIL, 2010). Categoricamente, PHYA se diverge em relação a suas propriedades fotoquímicas, estabilidade e mecanismos de translocação nuclear (abordado anteriormente) em comparação aos demais fitocromos (FRANKLIN; QUAIL, 2010; GURURANI; GANESAN; SONG, 2015). Diferentemente dos demais fitocromos, PHYA exibe uma rápida degradação na presença de luz (FRANKLIN; QUAIL, 2010; GURURANI; GANESAN; SONG, 2015; SHARROCK; CLACK, 2002). Logo, PHYA medeia respostas à fluência muito baixa da luz (*very low fluence responses*, VLFRs) e à alta irradiância (vermelho-distante) (*high-irradiance responses*, HIRs); e acumula-se,

predominantemente, em tecidos estiolados no escuro (FRANKLIN; QUAIL, 2010; GURURANI; GANESAN; SONG, 2015; SHARROCK; CLACK, 2002).

Os demais fitocromos, incluindo PHYB, são estáveis na presença de luz. De forma consonante, PHYB regula fundamentalmente respostas à baixa fluência da luz (*low-fluence responses*, LFRs) e à evitação de sombra, atuando com importante sensor de alterações na razão R:FR ao longo do ciclo de vida da planta (FRANKLIN; QUAIL, 2010; GURURANI; GANESAN; SONG, 2015; SHARROCK; CLACK, 2002). De forma condizente, PHYB é o fitocromo mais abundante nos tecidos verdes da planta crescida sob a luz (SHARROCK; CLACK, 2002). Considerando que esse fitocromo desempenha um papel preponderante na regulação de inúmeros fenômenos, majoritariamente descritos em *A. thaliana* (FRANKLIN; QUAIL, 2010), as próximas seções terão um enfoque maior em PHYB nessa espécie modelo.

Germinação. Nas espermatófitas (plantas com sementes), a germinação é obviamente indispensável ao estabelecimento de plântulas no ambiente (BENTSINK; KOORNNEEF, 2008). Uma semente quiescente irá germinar quando em contato com condições ideais de umidade, oxigênio, nutrientes e temperatura (BENTSINK; KOORNNEEF, 2008; DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

A luz é um sinal ambiental particularmente importante para a germinação de sementes fotodormentes, ou seja, em espécies cujas sementes apresentam germinação fotoblástica (positiva ou negativa) (BENTSINK; KOORNNEEF, 2008; BORTHWICK et al., 1952; DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Atuando como integrantes da rede de sinais controlados pelos fotorreceptores nas sementes fotoblásticas, os fitormônios são igualmente necessários ao controle da germinação, em particular, a giberelina (GA), que promove a germinação em sementes fotoblásticas positivas, e o ácido abscísico (ABA), com ação antagônica (BENTSINK; KOORNNEEF, 2008; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

Sabe-se que o fitocromo é o fotorreceptor que promove a germinação de muitas espécies de plantas superiores, sendo que PHYB é o regulador mestre

desse ponto central (*hub*) de sinalização, conforme evidências em *A. thaliana* (CASAL; SÁNCHEZ, 1998; SHINOMURA et al., 1996). Nessa via, AtPIF1 é o fator-chave a jusante (*downstream*) na sinalização do fitocromo para a repressão da germinação e esse processo envolve a regulação de GA e ABA (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; OH et al., 2004, 2009). Com um desbalanço entre esses dois hormônios, favorecendo o acúmulo de ABA, em detrimento ao de GA, verifica-se a manutenção da dormência do embrião (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). A fotodormência é quebrada com a presença do sinal luminoso, promovendo, assim, a ativação do fitocromo que remove AtPIF1 do núcleo e medeia a germinação da semente (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; SHINOMURA et al., 1996).

Desestiolamento da plântula. Concluída a etapa da germinação, a plântula se estabelecerá no ambiente seguindo o programa de desenvolvimento fotomorfogênico, o qual viabilizará o crescimento fotoautotrófico da planta (ARSOVSKI et al., 2012; CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004). O desestiolamento da plântula recém germinada marca a transição da escotomorfogênese para a fotomorfogênese e os principais reguladores desse fenômeno são os fitocromos e os criptocromos (ARSOVSKI et al., 2012; CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004; KAMI et al., 2010).

Em *A. thaliana*, AtPHYA e AtPHYB atuam como reguladores mestres da fotomorfogênese pela ação inibitória sobre o acúmulo das AtPIFs (KAMI et al., 2010; PAIK; HUQ, 2019). Categoricamente, as AtPIFs são repressoras do desenvolvimento fotomorfogênico, mas também atuam em outras vias, sendo que todos esses papéis têm sido extensivamente investigados mais recentemente (LEIVAR; MONTE, 2014; LEIVAR; QUAIL, 2011; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018).

Ensaio com o mutante *pifq*, defeitivo para AtPIF1, AtPIF3, AtPIF4 e AtPIF5 e com um fenótipo *constitutivamente fotomorfogênico* (constitutive photomorphogenesis, *cop*), forneceu indícios da ação sobreposta dessas quatro AtPIFs na regulação positiva do alongamento do hipocótilo e manutenção de cotilédones não expandidos (LEIVAR et al., 2008; LEIVAR; MONTE, 2014; SHIN

et al., 2009). Curiosamente, esse fenótipo *cop* robusto não foi observado em mutantes simples, duplos ou triplos *pif1*, *pif3*, *pif4* e *pif5*, sugerindo que essas AtPIFs apresentam um papel sinérgico, mas redundante na repressão total da fotomorfogênese em plântulas cultivadas em ausência do sinal luminoso (LEIVAR et al., 2008; LEIVAR; MONTE, 2014; SHIN et al., 2009).

Adicionalmente, evidências demonstraram que AtPIF1 e AtPIF3 atuam de maneira sobreposta na repressão do desenvolvimento de cloroplastos e biossíntese de clorofila que, nesse último caso, envolve a inibição do acúmulo do precursor protoclorofila (HUQ et al., 2004; KIM et al., 2016; SHIN et al., 2009; STEPHENSON; FANKHAUSER; TERRY, 2009). Sob baixa razão R:FR, AtPIF4, AtPIF5 e AtPIF7 agem conjuntamente na promoção do alongamento do hipocótilo pela regulação positiva da síntese de auxinas (HORNITSCHKE et al., 2012; LI et al., 2012).

A ação das PIFs durante o desestiolamento de plântulas também pode ocorrer de maneira não redundante. Por exemplo, AtPIF4 tem sido descrita como fator-chave para o alongamento do hipocótilo de plântulas induzido pela sinalização de auxinas sob altas temperaturas (QUINT et al., 2016). Esse desenvolvimento em resposta à temperatura denomina-se termomorfogênese e também é mediado pelo fitocromo B (JUNG et al., 2016; QUINT et al., 2016).

Estudos indicam que PHYA ativo (fotolábil) induz a expressão de genes de resposta rápida apenas no início do desestiolamento de plântulas (KAMI et al., 2010; PARKS; FOLTA; SPALDING, 2001; PARKS; SPALDING, 1999; TEPPERMAN; HWANG; QUAIL, 2006). Por outro lado, o fitocromo B (fotoestável) medeia modificações extensas na expressão gênica durante o todo o período de desestiolamento (KAMI et al., 2010; PARKS; FOLTA; SPALDING, 2001; PARKS; SPALDING, 1999; TEPPERMAN; HWANG; QUAIL, 2006).

Coerente com a informação supracitada, todas as PIFs de *A. thaliana* e de tomateiro, apresentam motivos de ligação ao fitocromo B, mas nem todas possuem domínios de ligação ao fitocromo A (PHAM; KATHARE; HUQ, 2018). Logo, é esperado que as PIFs integrem, de forma preponderante, as vias de sinalização mediadas pelo fitocromo B, revelando o papel de destaque desse fotorreceptor em respostas dependentes de luz e outros fatores (JUNG et al.,

2016; LEIVAR; MONTE, 2014; LEIVAR; QUAIL, 2011; PAIK; HUQ, 2019; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; TRIPATHI et al., 2019).

O crescimento estiolado promovido pelas PIFs é facilmente revertido em um desenvolvimento fotomorfogênico pela ação de fitocromos ativos (LEIVAR; MONTE, 2014; LEIVAR; QUAIL, 2011; PAIK; HUQ, 2019). A degradação das PIFs após interagirem com fitocromos ativos no núcleo promove alterações globais na expressão gênica com a repressão de genes relacionados à escotomorfogênese e a indução de genes promotores de fotomorfogênese (ARSOVSKI et al., 2012; DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; XU et al., 2015).

Os fitocromos agem de forma conjunta com os criptocromos no desestiolamento de plântulas sob condições de iluminação que contenham radiações nas faixas do vermelho e azul (CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004; KAMI et al., 2010). Ambos, AtCRY1 e AtCRY2, ativados pela luz azul, inibem o alongamento do hipocótilo (CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004; KAMI et al., 2010). Sobrepondo-se à sinalização luminosa dos fitocromos, a sinalização de CRY também envolve a interação desse fotorreceptor com SPA1, levando a supressão da atividade de COP1/SPA1 com a liberação dos efetores a jusante, incluindo HY5 (CHEN; CHORY; FANKHAUSER, 2004; KAMI et al., 2010; LIU et al., 2011).

Em resumo, a intercomunicação entre vias fotossensoriais, via proteínas regulatórias compartilhadas, tais como HY5, bem como via impactos coordenados na homeostase hormonal, resultam, em última análise, no estabelecimento da fotomorfogênese com o desenvolvimento de uma plântula desestiolada de crescimento fotoautotrófico (ARSOVSKI et al., 2012; DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; PHAM; KATHARE; HUQ, 2018; XU et al., 2015).

Arquitetura vegetativa e tempo de floração. Frequentemente, as condições flutuantes de luminosidade requerem que as plantas ajustem o seu desenvolvimento de modo a otimizar seu desempenho (*fitness*) no ambiente circundante (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016). Plântulas recém-estabelecidas, bem como plantas adultas, competem pelo recurso

luminoso para a manutenção de condições ideais à manutenção da fotossíntese (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). Em virtude de serem organismos sésseis, a maioria das plantas (popularmente conhecidas como plantas “de sol”) requerem ajustes em seus padrões de crescimento e desenvolvimento de modo a evitarem a sombra e obterem condições ótimas de luminosidade, um fenômeno denominado síndrome de evitação de sombra (*shade-avoidance syndrome*, SAS) (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). Assim sendo, provavelmente um dos papéis centrais dos fitocromos, em particular PHYB, no crescimento vegetativo da planta seja regular respostas de evitação ao sombreamento, uma vez que tais ajustes de padrão de crescimento podem impactar significativamente a quantidade e qualidade de luz interceptada pelas estruturas fotossintetizantes desse organismo (FRANKLIN; QUAIL, 2010).

A alta densidade de vegetação em um ambiente promove a alteração na qualidade luminosa nos arredores das plantas ou subjacente ao dossel da floresta (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). Ao atravessar folhas ricas em cloroplastos, a luz solar torna-se enriquecida de fótons na região do FR, conseqüentemente diminuindo a razão R:FR, a qual é constantemente monitorada pelos fitocromos (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). Conseqüentemente, o SAS é desencadeado em plantas em ambientes sombreados que recebem o sinal luminoso rico em FR e empobrecido para as composições espectrais da luz vermelha e do azul (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). A diminuição da razão R:FR induz uma elevada taxa de reversão de fitocromos Pfr-para-Pr e essa redução no *pool* de fotorreceptores ativos limita a ação inibitória sobre reguladores de feedback negativo ao sinal luminoso (PIFs e COP1) (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021).

O fitocromo B ativo é o principal repressor dos fenótipos associados a SAS, mas a inativação desse fotorreceptor, quando a razão R:FR é reduzida, induz a liberação das PIFs para atuarem na manutenção da síndrome de evitação de sombreamento, a qual se caracteriza por altas taxas de alongamento de hipocótilos e entrenós, supressão da ramificação lateral, floração precoce e senescência foliar acelerada (CASAL, 2013; FRANKLIN; QUAIL, 2010; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021). Além disso, as alterações fenotípicas de SAS também são reguladas via atuação do complexo COP1/SPA1 que induz a degradação proteossômica de HY5 (CASAL, 2013; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PIERIK; BALLARÉ, 2021; TRIPATHI et al., 2019).

O alongamento do hipocótilo de plântulas em sombreamento é induzido especialmente por AtPIF4, AtPIF5 e AtPIF7 pela integração da sinalização hormonal de auxinas, um regulador chave do fenótipo de SAS (HORNITSCHKEK et al., 2012; LI et al., 2012). A biossíntese desse hormônio ocorre, predominantemente, pela ação enzimática do triptofano aminotransferase (TAA) que converte triptofano em indol-3-piruvato (IPA) e este, por sua vez, é convertido em ácido 3-indolacético (AIA), uma auxina, pela ação da enzima flavina monooxigenase (YUCCA) (TAO et al., 2008; WON et al., 2011; ZHAO, 2010).

Em resposta a redução da razão R:FR, as AtPIF4, AtPIF5 e AtPIF7 promovem a expressão de genes de biossíntese de auxinas (*YUCCA*) no cotilédone, além de modular o transporte polar desse hormônio, através da expressão de *PIN-FORMED 3 (AtPIN3)* e regular a sua sinalização pela indução da transcrição de genes de sinalização *Aux/IAAs*, incluindo *INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 19 (AtIAA19)* e *AtIAA29* (DE WIT et al., 2016; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; HORNITSCHKEK et al., 2012; IGLESIAS et al., 2018; KEUSKAMP et al., 2010; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; LI et al., 2012; PIERIK; BALLARÉ, 2021).

Uma vez sintetizada, a auxina é transportada para o hipocótilo da plântula, induzindo a transcrição de um gene de sinalização, *SMALL AUXIN UP-RNA 19*

(*AtSAUR19*), para a acidificação da célula e a expressão de genes *XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLUCOSYLASE/HYDROLASEs (XTHs)* que codificam enzimas que controlam a resistência e a extensibilidade da parede celular (IGLESIAS et al., 2018; KÜPERS; VAN GELDEREN; PIERIK, 2018; PROCKO et al., 2016; SASIDHARAN et al., 2010; SPARTZ et al., 2014). A ação das auxinas se soma a do hormônio brassinosteróide na regulação positiva desse fenótipo de alongamento (DE WIT et al., 2016; PROCKO et al., 2016).

O alongamento de entrenós é outro aspecto de desenvolvimento afetado pela redução da razão R:FR (CASAL, 2013). Plantas de diversas espécies vegetais apresentaram um fenótipo de alongamento internodal ao serem cultivadas em baixa razão R:FR (BALLARÉ; SCOPEL; SÁNCHEZ, 1991; KALAITZOGLU et al., 2019), o qual, em alguns casos, está associado a incrementos na sinalização de GA e auxinas na região do entrenó (KUREPIN et al., 2007).

O crescimento do caule *per se*, sob condições de sombreamento, é um processo que envolve a expansão celular, mas as bases moleculares envolvidas no alongamento de entrenós, em resposta a baixa razão R:FR, ainda não estão elucidadas (CASAL, 2013; DEMOTES-MAINARD et al., 2016). Considerando que o fitocromo B é o fator-chave na repressão de respostas de evitação de sombra, possivelmente esse fotorreceptor estaria envolvido no controle desse fenótipo pela regulação das PIFs e, em última análise, pela modulação de auxinas e outros hormônios (CASAL, 2013; DEMOTES-MAINARD et al., 2016; FRANKLIN; QUAIL, 2010; FRASER; HAYES; FRANKLIN, 2016; PIERIK; BALLARÉ, 2021).

O crescimento horizontal da planta através da emissão de ramos laterais ou alongamento dos pecíolos da folhas também pode ser afetado pelo sombreamento (DOMAGALSKA; LEYSER, 2011; FINLAYSON et al., 2010). A ramificação é orquestrada pelo meristema axilar situado nas axilas das folhas, sendo que a iniciação desse meristema resulta em gemas axilares que, posteriormente, se desenvolverão em ramos laterais vegetativos e inflorescências (DOMAGALSKA; LEYSER, 2011; FINLAYSON et al., 2010).

O desenvolvimento ou a dormência (dominância apical) das gemas axilares é regulada pela sinalização hormonal de modo dependente de sinais ambientais, bem como do estágio de desenvolvimento da planta (DOMAGALSKA; LEYSER, 2011). A luz é um sinal ambiental que controla a ramificação pela integração de vias hormonais, incluindo as auxinas e estrigolactonas (SLs), reguladoras negativas da ramificação e promotoras da dominância apical, e citocininas (CKs) que promovem o desenvolvimento das gemas axilares (DOMAGALSKA; LEYSER, 2011).

Estudos conduzidos nos anos 2000 trouxeram informações particularmente relevantes sobre o papel dos fitocromos no controle da ramificação mediado por luz. Análises do mutante *sbphyb* de sorgo (*Sorghum bicolor*) demonstraram que, em ausência desse fotorreceptor, verifica-se a formação de gemas axilares dormentes sob condições não sombreadas (KEBROM; BURSON; FINLAYSON, 2006). De forma similar, um fenótipo de dormência das gemas também foi observado em plantas selvagens (WT) sob baixa razão R:FR, sendo que a redução da ramificação em todas as plantas foi associada a elevada taxa de transcritos de *TEOSINTE BRANCHED 1* (*SbTB1*), um repressor da ramificação que seria modulado por *SbPHYB* (KEBROM; BURSON; FINLAYSON, 2006).

Adicionalmente, o mutante *phyb* de *A. thaliana* apresentou ramificação reduzida e esse fenótipo foi associado a diminuição do crescimento de gemas axilares mediado por *BRANCHED 1* (*AtBRC1*), um repressor da ramificação homólogo a *SbTB1* (FINLAYSON et al., 2010). *A. thaliana* apresenta dois genes *BRANCHED* (*AtBRC1* e *AtBRC2*), sendo que *AtBRC1* possui um papel central na supressão da ramificação (AGUILAR-MARTÍNEZ; POZA-CARRIÓN; CUBAS, 2007; FINLAYSON et al., 2010; GONZÁLEZ-GRANDÍO et al., 2013; WANG et al., 2019).

Genes homólogos a *BRANCHED* são encontrados em diferentes espécies, incluindo milho *Zea mays* (*ZmTB1*), arroz *Oryza sativa* (*OsFC1/FINE CULM 1*) e tomateiro *Solanum lycopersicum* (*SIBRC1a* e *SIBRC1b*) (DOEBLEY; STEC; HUBBARD, 1997; MARTÍN-TRILLO et al., 2011; TAKEDA et al., 2003; WANG et al., 2019). No tomateiro, os parálogos *SIBRC1a* e *SIBRC1b* foram

originados após um evento de duplicação e apresentam uma diversificação funcional, sendo que *SIBRC1b* tem um papel preponderante no crescimento de gemas axilares, enquanto *SIBRC1a* parece não regular esse processo (MARTÍN-TRILLO et al., 2011).

A sinalização de auxinas modula a transcrição de *BRC1/TB1/FC1* nas gemas axilares pela regulação da biossíntese de estrigolactonas e citocininas (WANG et al., 2019). Na dominância apical, as auxinas sintetizadas no ápice caulinar e, transportadas em direção as raízes, promovem a síntese de estrigolactonas nas gemas axilares pela indução de genes *MORE AXILLARY GROWTH (MAX)* em *A. thaliana* (TRIPATHI et al., 2019; WANG et al., 2019).

As estrigolactonas são conhecidas por inibirem a síntese de CKs nas gemas axilares pela regulação negativa de *ISOPENTENYL TRANSFERASE (IPT)* que codifica uma enzima-chave da via biossintética de CK, a isopentenil transferase (IPT) (EL-SHOWK; RUONALA; HELARIUTTA, 2013). Em linhas gerais, a enzima IPT catalisa a adição da cadeia lateral do dimetilalildifosfato (DMAPP) à adenosina, que resulta em isopenteniladenina ribosídeo 5'-monofosfato (iPRMP), que será convertido na forma ativa da citocinina (*trans*-zeatina, tZ) por reações adicionais (EL-SHOWK; RUONALA; HELARIUTTA, 2013).

Paralelamente a ação das estrigolactonas, as auxinas regulam o acúmulo de citocininas em *A. thaliana* pela modulação de genes de biossíntese *IPT (AtIPT5 e AtIPT7)* e degradação *CYTOKININ OXIDASE 1 (AtCKX1)* e *AtCKX6*, além de modular a sinalização de CKs ativando os reguladores de resposta desse hormônio *ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS (ARR)* pela indução da expressão de *AtARR7* e *AtARR15* (EL-SHOWK; RUONALA; HELARIUTTA, 2013; MIYAWAKI; MATSUMOTO-KITANO; KAKIMOTO, 2004; WERNER et al., 2006; ZHAO et al., 2010).

A modulação negativa dos níveis endógenos de citocininas é suficiente para a desrepressão de genes *BRC1/TB1/FC1* que, portanto, são transcritos nesses tecidos e inibem o crescimento das gemas axilares (EL-SHOWK; RUONALA; HELARIUTTA, 2013; WANG et al., 2019). A ramificação, por sua vez, é estimulada em condições de reduzida dominância apical, sob níveis

limitados de auxinas (BOOKER; CHATFIELD; LEYSER, 2003; DOMAGALSKA; LEYSER, 2011).

A regulação das concentrações de auxinas na planta parece ser um dos principais fatores endógenos para o controle da ramificação, via sinalizadores a jusante; e esse hormônio está envolvido na regulação de outros fenótipos de escape a sombra, incluindo alongamento caulinar e floração (BOOKER; CHATFIELD; LEYSER, 2003; DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; DOMAGALSKA; LEYSER, 2011; EL-SHOWK; RUONALA; HELARIUTTA, 2013; IGLESIAS et al., 2018; KUREPIN et al., 2007; NOZUE et al., 2015; REDDY; FINLAYSON, 2014; WANG et al., 2019).

A modulação dos níveis de auxinas, sob reduzida relação R:FR, tem sido associada a uma regulação *upstream* pelos fitocromos, sugerindo que esse fotorreceptor poderia regular a ramificação, indiretamente, pelo controle da biossíntese desse hormônio (REDDY; FINLAYSON, 2014). Coerentemente, a exposição de plântulas de *A. thaliana* ao sombreamento (diminuição da razão R:FR) leva a um aumento na expressão de genes *YUCCA* de biossíntese de auxinas pela ação de AtPIF4, AtPIF5 e AtPIF7 (HORNITSCHKEK et al., 2012; LI et al., 2012).

Tomados em conjuntos, esses dados indicam que o crescimento do caule e o surgimento de ramos laterais são influenciados pelos sinais luminosos, com o estabelecimento de respostas mediadas, fundamentalmente, por fitocromos B; sendo que a integração das vias fotossensoriais (PHYBs-PIFs) e hormonais (auxinas, citocininas, estrigolactonas, dentre outros) parece ser determinante para a arquitetura vegetativa da planta.

O hábito de crescimento da planta é igualmente importante para moldar a sua arquitetura (WANG; LI, 2008). O crescimento determinado (monopodial) de *A. thaliana* é marcado pela distinção entre as fases vegetativa e reprodutiva, sendo que, após a indução da floração, a conversão do meristema apical caulinar em um meristema reprodutivo limita a planta em retomar o seu crescimento vegetativo vertical (SCHMITZ; THERES, 1999).

Diferentemente de *A. thaliana*, o crescimento indeterminado (simpodial) de espécies como o tomateiro consiste na alternância de unidades simpodiais

(ou seja, unidades constituídas de folhas e inflorescências), em que o crescimento vegetativo é retomado após a floração (PIOTTO et al., 2012; SAMACH; LOTAN, 2007; SCHMITZ; THERES, 1999; SILVA et al., 2018). Nesse tipo de crescimento, o meristema apical caulinar libera a primeira inflorescência, após a formação de um número crítico de folhas (ou seja, 8-12 folhas) e, então, o meristema axilar da folha superior começa a se desenvolver, culminando na formação da primeira unidade simpodial que será sucedida pela segunda, terceira e, assim por diante (PIOTTO et al., 2012; SAMACH; LOTAN, 2007; SCHMITZ; THERES, 1999; SILVA et al., 2018).

De modo interessante, o tomateiro selvagem é uma espécie de crescimento indeterminado, mas a domesticação de alguns cultivares pela seleção de uma mutação recessiva com perda de função do gene *SELF-PRUNING* (*SP*) induziu a determinação do hábito de crescimento, a fim de otimizar o cultivo e a colheita do tomate comercial, especialmente em condições de plantio em campo (PIOTTO et al., 2012; SILVA et al., 2018). Assim, os cultivares disponíveis, de crescimento determinado, possuem um número gradualmente reduzido de folhas por unidade simpodial, com o último meristema axilar liberando duas inflorescências consecutivas (PIOTTO et al., 2012; SAMACH; LOTAN, 2007; SILVA et al., 2018).

Nas angiospermas, a floração consiste em um processo fundamental para o sucesso reprodutivo no ambiente (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; SIMPSON; DEAN, 2002). O florescimento apenas é possível pela alteração do programa de desenvolvimento vegetativo-para-reprodutivo da planta com a conversão do meristema apical caulinar em um meristema reprodutivo; e essa transição é sinalizada à planta através de fatores endógenos e ambientais (DE WIT; GALVÃO; FANKHAUSER, 2016; SIMPSON; DEAN, 2002).

A luz é um dos principais sinais do ambiente que regula o tempo de floração das plantas, sendo que o controle luminoso para o florescimento pode ser influenciado tanto pela qualidade luminosa (composição espectral) quanto pelo fotoperíodo (comprimento relativo do dia) (CERDÁN; CHORY, 2003; ENDO; ARAKI; NAGATANI, 2015; MOCKLER et al., 2003). O fotoperíodo consiste em um sinal sazonal para regular a floração em muitas espécies (ENDO; ARAKI;

NAGATANI, 2015; JUNG et al., 2017; SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017). Dependendo da resposta fotoperiódica, as plantas se classificam categoricamente como (i) de dia longo (*long-day plants*, LDPs) que floresce em condições de dias longos (por exemplo, *A. thaliana*); (ii) de dia curto (*short-day plants*, SDPs) que floresce em dias curtos (por exemplo, milho e arroz); e de dia neutro (*day-neutral plants*, DNPs) que são insensíveis ao fotoperíodo para a floração (por exemplo, tomateiro) (ANDRÉS; COUPLAND, 2012; CAO et al., 2018).

As bases moleculares da sinalização luminosa no controle da floração em *A. thaliana*, uma LDP, indicam que a floração fotoperiódica é regulada por uma complexa interação entre relógio circadiano e fotorreceptores que controlam, em nível transcricional e pós-traducional, a abundância e a atividade da proteína CONSTANS (AtCO), um elemento-chave da transição floral (SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017). AtCO regula a expressão de *FLOWERING LOCUS T* (*AtFT*) que codifica um sinalizador floral (FT) que se move das folhas em direção ao meristema apical (via floema), onde interage com *FLOWERING LOCUS D* (*AtFD*), ativando os genes *APETALA 1* (*AtAP1*) e *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1* (*AtSOC1*) (ABE et al., 2005; DEMOTES-MAINARD et al., 2016; MOON et al., 2005; SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017; TURCK; FORNARA; COUPLAND, 2008).

No núcleo, AtSOC1 interage com AGAMOUS-LIKE 24 (*AtAGL24*) para a expressão de *LEAFY* (*AtLFY*), um gene de identidade floral, que em conjunto com *AtAP1*, determinam a especificidade dos órgãos florais (IRISH; SUSSEX, 1990; LEE et al., 2008; MOON et al., 2005; WEIGEL et al., 1992). No tomateiro, os genes *SINGLE FLOWER TRUSS* (*SISFT*) e *FALSIFLORA* (*SIFA*) são ortólogos de *AtFT* e *AtLFY*, respectivamente (LIFSCHITZ; ESHED, 2006; MOLINERO-ROSALES et al., 1999).

Na ausência do sinal luminoso, em condições de fotoperíodo indutivo, o complexo COP1/SPA1 (no núcleo) degrada AtCO, limitando a expressão de *AtFT* e inibindo a floração de *A. thaliana* (JANG et al., 2008; SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017). Em presença de luz, os fitocromos A e B controlam a floração,

de modo antagônico, por meio da regulação da estabilidade da proteína CO (SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017).

No período da manhã, verifica-se um enriquecimento de luz R e, nesse cenário, o AtPHYB atrasa a floração da planta pela interação com HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE 1 (AtHOS1) que leva a degradação de AtCO (LAZARO et al., 2015; SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017). À tarde, AtPHYA, ao absorver FR, age em conjunto PHYTOCHROME-DEPENDENT LATE-FLOWERING (AtPHL), uma proteína na via de sinalização de AtPHYB, para induzir a estabilização de AtCO (ENDO et al., 2013; SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017). O acúmulo de AtCO, sob fotoperíodo indutivo, promove a transcrição de *AtFT* e, conseqüentemente, o florescimento da planta (SHIM; KUBOTA; IMAIZUMI, 2017).

Além do fotoperíodo, a qualidade da luz influencia o processo da floração (ENDO; ARAKI; NAGATANI, 2015). Variações na proporção de R:FR no ambiente modulam a expressão de genes *FT*, impactando o tempo de floração das diferentes espécies (DEMOTES-MAINARD et al., 2016). Por exemplo, em *A. thaliana* a baixa razão R:FR desencadeia respostas de escape ao sombreamento, incluindo um florescimento acelerado pela indução da transcrição de *AtFT* (CERDÁN; CHORY, 2003). Nessa via, AtPHYB desempenha um papel crítico para a floração de *A. thaliana* em resposta ao sombreamento por influenciar a codificação do sinal floral AtFT (MOCKLER et al., 1999; SIMPSON; DEAN, 2002).

Amadurecimento de frutos carnosos. Quando polinizadas e fertilizadas, as flores das angiospermas geralmente se desenvolvem em frutos com sementes (GILLASPY; BEN-DAVID; GRUISSEM', 1993). Diferente de *A. thaliana* (uma planta de frutos secos), o tomateiro apresenta frutos carnosos que acumulam compostos com alto valor nutricional e/ou sensoriais durante a etapa de amadurecimento desse órgão (CARRARI; FERNIE, 2006; MEINKE et al., 1998; QUINET et al., 2019).

O tomate é o principal modelo para o estudo da fisiologia do amadurecimento de frutos carnosos climatéricos (GIOVANNONI, 2004). Nessa espécie, após a fecundação do ovário da flor, tem início o desenvolvimento do

fruto com a transição de um estágio verde-imaturo (*Immature Green*, IG) para o verde-maduro (*Mature Green*, MG). Em termos gerais, as maiores taxas de divisão celular nos frutos de tomateiro ocorrem durante os primeiros dias após a fertilização, seguida por um aumento da expansão celular, que cessa quando o fruto atinge MG (GILLASPY; BEN-DAVID; GRUISSEM', 1993; GIOVANNONI, 2004).

O estágio Bk (*Breaker*) corresponde ao início do amadurecimento do fruto e coincide com um característico aumento da taxa respiratória e biossíntese de etileno, sendo essas respostas típicas de frutos climatéricos (GILLASPY; BEN-DAVID; GRUISSEM', 1993; GIOVANNONI, 2004). O amadurecimento do tomate envolve a conversão de cloroplastos em cromoplastos pela desorganização das membranas tilacoidiais, degradação da clorofila e acúmulo de carotenoides e tocoferóis (vitamina E) nessas organelas (ALMEIDA et al., 2016; BIAN et al., 2011; EGEA et al., 2010).

Em função da sua atuação preponderante, o etileno é conhecido como o hormônio do amadurecimento de frutos climatéricos (GIOVANNONI, 2004). A biossíntese desse hormônio é iniciada pela conversão de metionina em S-adenosilmetionina (SAM), reação catalisada pela enzima SAM sintetase (SAMS) (HOUBEN; VAN DE POEL, 2019; LIN; ZHONG; GRIERSON, 2009). A ação da enzima ACC-sintase (ACS) converte o substrato SAM em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) e este, subsequentemente, é oxidado a etileno pela ACC-oxidase (ACO) (HOUBEN; VAN DE POEL, 2019; LIN; ZHONG; GRIERSON, 2009).

A sinalização do etileno ao longo do amadurecimento envolve receptores de membrana codificados por uma família multigênica, que, no caso do tomateiro, compreendem sete genes: *ETHYLENE RECEPTOR 1* (*SIETR1*), *SIETR2*, *SIETR3/NR* – *Never ripe*, e *SIETR4-SIETR7* (LIU et al., 2015). A ativação desses receptores pelo etileno induz a estabilização dos fatores de transcrição *ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE* (*EIL*) que, por sua vez, promovem a expressão de *ETHYLENE RESPONSIVE FACTORS* (*ERF*) para regular a transcrição de genes-alvo durante o amadurecimento do fruto (LIU et al., 2015). No tomateiro, *SIETR3*, alguns genes *EIL* (*SIEIL1*, *SIEIL2*, *SIEIL3* e *SIEIL4*) e

ERFs (*SIERF.E1*, *SIERF.E2*, *SIERF.E4* e *SIERF.F2*) são altamente expressos ao longo do amadurecimento (LIU et al., 2015, 2016).

A qualidade nutricional do tomate maduro (estágio também conhecido como *Red Ripe*, RR) é diretamente impactada pelo acúmulo de compostos do metabolismo secundário, incluindo carotenoides, tocoferóis e flavonoides; enquanto que o *flavor* (sabor + aroma) do fruto maduro depende de modificações nos perfis de açúcares, ácidos orgânicos e compostos voláteis (ALMEIDA et al., 2016; ALVES et al., 2020; BIAN et al., 2011; CARRARI; FERNIE, 2006; EGEA et al., 2010; GIOVANNONI, 2004; KLEE; GIOVANNONI, 2011; QUINET et al., 2019).

A luz influencia a biogênese e o desenvolvimento plastidial de frutos em amadurecimento e isso afeta a composição nutricional desse órgão. Os fitocromos, enquanto reguladores-mestres das cascatas de sinalização luminosa, controlam inúmeros fenômenos críticos ao desenvolvimento da planta, incluindo o desenvolvimento e amadurecimento dos frutos. Por conta disso, os fitocromos e componentes subjacentes vêm sendo extensivamente investigados, particularmente no que tange à biossíntese de compostos isoprenoides como carotenoides e tocoferóis. Por exemplo, no mutante *aurea* (*au*) de tomateiro (parcialmente deficiente na síntese de PΦB), a deficiência na percepção luminosa, via fitocromos, revelou um impacto significativo dessa classe de fotorreceptores na fisiologia dos frutos, com alterações no início da síntese de etileno e no acúmulo de carotenoides nos frutos maduros (BIANCHETTI et al., 2017).

A síntese de carotenoides ocorre nos plastídios por meio da via do metil-eritritol fosfato (MEP), tendo como precursor o geranylgeranyl difosfato (GGDP) produzido por ação da enzima difosfato de geranylgeranilo (GGPS) (ALMEIDA et al., 2015). O acúmulo dos carotenoides do tomate, com destaque para fitoeno, fitoflueno, licopeno, luteína e β-caroteno envolvem uma série de reações (ALMEIDA et al., 2015). Resumidamente, o GGDP é convertido a fitoeno por ação da fitoeno sintase (PSY) que, então, é convertido em fitoflueno pela fitoeno desaturase (PDS) (ALMEIDA et al., 2015). O fitoflueno é convertido em licopeno que se acumula, predominantemente, no pericarpo do fruto, definindo a cor

desse órgão (ALMEIDA et al., 2015; DAVIES; HOBSON, 1981). O licopeno é convertido em luteína e em β -caroteno por ação das enzimas β -licopeno ciclase cloroplástica (LYC β) e β -licopeno ciclase cromoplástica (CYC β) (ALMEIDA et al., 2015).

No tomate, o silenciamento fruto-específico (promotor *PPC2*) de *SIPHYA* (*PPC2::SIPHYA^{RNAi}*) ou de *SIPHYB2* (*PPC2::SIPHYB2^{RNAi}*) reduziu significativamente o conteúdo de carotenoides totais, evidenciando o papel decisivo de fitocromos presentes nos tecidos do próprio fruto na regulação da carotenogênese desse órgão (BIANCHETTI et al., 2018). Ademais, a perda de função dos genes que codificam os reguladores negativos da fotomorfogênese DAMAGED DNA BINDING PROTEIN 1 (SIDDB1) e DE-ETIOLATED 1 (SIDET1), nos mutantes *ddb1/hp1* e *det1/hp2* de tomateiro, promoveu níveis mais altos de carotenoides nos frutos maduros em virtude do significativo desenvolvimento de cloroplastos em frutos verdes, sendo esse fenótipo convertido em uma maior abundância de cromoplastos (COOKSON et al., 2003; CRUZ et al., 2018; KOLOTILIN et al., 2007; LIU et al., 2004; MUSTILLI et al., 1999).

Em tomateiro, *SIPIF1a*, *SIPIF1b* e *SIPIF3* exibem elevada expressão nos tecidos do fruto e se localizam em fotocorpos nucleares, possivelmente pela interação com PHYs ativos (GRAMEGNA et al., 2019; ROSADO et al., 2016). Evidências também indicam que *SIPIF1a* regula diretamente a carotenogênese nesse órgão ao se ligar ao promotor de *PHYTOENE SYNTHASE 1* (*SIPSY1*), controlando a expressão desse gene-chave da rota de biossíntese de carotenoides nos frutos em amadurecimento (LLORENTE et al., 2016).

Análises conduzidas em frutos verdes do tomate indicaram que a presença de clorofilas nos tecidos desse órgão induz um efeito de auto-sombreamento e as células internas do pericarpo recebem o sinal luminoso enriquecido em FR (baixo R:FR) (LLORENTE et al., 2016, 2017; LLORENTE; D'ANDREA; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, 2016). Nesses tecidos mais internos do fruto, uma proporção relativamente alta de fitocromo inativo (Pr) estabilizaria *SIPIF1a*, que, por sua vez, se ligaria diretamente ao promotor do gene de biossíntese de carotenoides (*SIPSY1*), reprimindo a sua expressão (LLORENTE et al., 2016, 2017; LLORENTE; D'ANDREA; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN,

2016). Contudo, com o avanço do amadurecimento, a progressiva degradação das moléculas de clorofila induziria a conversão de fitocromo para Pfr, o qual promoveria a degradação de SIPIF1a, desencadeando, portanto, a ativação de *SIPSY1* e, conseqüentemente, a biossíntese de carotenoides no fruto em amadurecimento (LLORENTE et al., 2016, 2017; LLORENTE; D'ANDREA; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, 2016).

Outro isoprenoide que se acumula no fruto em amadurecimento é o tocoferol. A biossíntese dos tocoferóis também acontece nos plastídios, a partir de dois precursores: o fitil-difosfato (PDP) da via do MEP e o homogentisato (HGA), do ácido chiquímico (SK) (ALMEIDA et al., 2011, 2015, 2016; GRAMEGNA et al., 2019). O PDP pode ser obtido a partir da conversão do GGDP (precursor dos carotenoides) pela ação da geranylgeranyl difosfato redutase (GGDR); ou a partir da reciclagem do fitol (proveniente da degradação da clorofila), sob catálise das enzimas fitol quinase (VTE5) e fitil fosfato quinase (VTE6) (ALMEIDA et al., 2011, 2015, 2016; GRAMEGNA et al., 2019).

A síntese dos tocoferóis ocorre a partir da condensação do PDP e do HGA em uma série de reações enzimáticas catalisadas pelas enzimas, em sequência: homogentisato fitil transferase (VTE2), 2,3-dimetil-5-fetilquinol metiltransferase (VTE3), tocoferol ciclase (VTE1) e γ -tocoferol-C-metil transferase (VTE4); culminando com a liberação das quatro isoformas de tocoferóis disponíveis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) que se diferem pelo número e posição de radicais metil (ALMEIDA et al., 2011, 2015, 2016; GRAMEGNA et al., 2019).

No tomate, as PIFs agem como componentes *downstream* da via de sinalização dos fitocromos para regular o acúmulo de tocoferóis. Evidências apontam que, na ausência de luz, SIPIF3 interage fisicamente com o promotor do gene *GERANYLGERANYL DIPHOSPHATE REDUCTASE (SIGGDR)*, inibindo a sua expressão e reprimindo a síntese de tocoferóis no fruto em amadurecimento (GRAMEGNA et al., 2019).

Senescência foliar. A senescência foliar é um processo de intensa atividade metabólica, incluindo a degradação de clorofila, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos; e a remobilização de nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo, íons metálicos e minerais, para o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da

planta (BUCHANAN-WOLLASTON et al., 2003; LIM et al., 2018; SAKURABA, 2021). A senescência pode ser induzida por fatores intrínsecos da planta, incluindo idade, fase de desenvolvimento e balanço hormonal, mas também por fatores ambientais, tais como seca, salinidade, temperaturas e luz (condições de escuro ou diminuição da razão R:FR) (BUCHANAN-WOLLASTON et al., 2003; LIM et al., 2018; SAKURABA, 2021; TRIPATHI et al., 2019).

A irradiação com luz R mostrou ser efetiva para inibir a degradação da clorofila em folhas de plantas de pepino e tomate e esse efeito foi revertido pela luz FR, indicando o envolvimento do PHY na regulação da senescência foliar (TUCKER, 1981). Análises conduzidas em *A. thaliana* tem revelado um papel de destaque para PHYB na repressão da senescência foliar (LIM et al., 2018; SAKURABA et al., 2014). Em *Arabidopsis*, a perda de função de *AtPHYB* (mutante *atphyb*), mas não de *AtPHYA* (mutante *atphya*), promoveu um fenótipo de senescência acelerada, induzida por escuro, com teores reduzidos de clorofila se comparado ao selvagem (SAKURABA et al., 2014). De forma condizente, apenas o mutante *atphyb*, mas não *atphya*, cultivado sob luz R ou alta razão R:FR exibiu um teor reduzido de clorofilas nas folhas, se comparado ao controle; indicando que *AtPHYB* ativo inibe a senescência foliar nessas condições de luminosidade (LIM et al., 2018).

Em *A. thaliana*, a senescência foliar é inibida pela ação conjunta de *AtPHYB* e *EARLY FLOWERING 3 (AtEF3)*, um componente do relógio circadiano, que agem em nível pós-traducional e transcricional, respectivamente, limitando os níveis de *AtPIF4* e *AtPIF5*, reguladores positivos da senescência induzida por idade e ausência de luz (SAKURABA et al., 2014). No escuro, *AtPIF4* e *AtPIF5* induzem a sinalização de etileno pela ativação da expressão de *ETHYLENE INSENSITIVE3 (AtEIN3)*, assim como a sinalização de ABA pela indução de *ABA-INSENSITIVE 5 (AtABI5)* e *ENHANCED EM LEVEL (AtEEL)* (SAKURABA et al., 2014). Em conjunto, as cinco proteínas ativam a expressão do principal fator de transcrição associado a senescência em *A. thaliana*, o *ORESARA 1 (AtORE1)*, um gene da família NAC (*no apical meristem [NAM]*), *Arabidopsis transcription activation factor [ATAF]*, e *cup-shaped cotyledon [CUC]*) de fatores de transcrição regulados por senescência

(BALAZADEH; RIAÑO-PACHÓN; MUELLER-ROEBER, 2008; SAKURABA et al., 2014).

O fator de transcrição AtORE1 induz a expressão de genes de senescência, os *SENESCENCE-ASSOCIATED GENES* (SAGs), envolvidos com funções catabólicas e de transporte de açúcares (BALAZADEH et al., 2010; JAMES et al., 2018; MATAALLANA-RAMIREZ et al., 2013; SAKURABA et al., 2014). *SAG12* é um dos marcadores de senescência mais amplamente utilizados; a protease resultante degrada a RuBisCO e remobiliza nitrogênio (N) em tecidos foliares senescentes (JAMES et al., 2018).

Folhas senescentes do mutante *phyb* de *A. thaliana* exibiram uma elevada expressão de *AtSAG12* e um fenótipo de amarelecimento foliar evidenciado pela redução nos teores de clorofila (SAKURABA et al., 2014). A expressão de genes catabólicos de clorofila, incluindo *NON-YELLOW COLORING 1* (*AtNYC1*), *STAY-GREEN 1* (*AtSGR1*), também conhecido como *NON-YELLOWING 1* (*AtNYE1*) e *PHEOPHORBIDE A OXYGENASE* (*AtPAO*), é fortemente regulada por AtORE1 que modula a degradação desse pigmento fotossintético durante a senescência foliar (QIU et al., 2015).

Em *A. thaliana*, AtPIF4 mostrou regular a expressão de genes do metabolismo da clorofila em folhas senescentes, promovendo *AtSGR1* para a degradação desse pigmento e reprimindo *PROTOCHLOROPHYLLIDE OXIDOREDUCTASE C* (*AtPORC*), um gene da rota biossintética de clorofilas (SONG et al., 2014). As folhas senescentes de *A. thaliana* também exibiram regulação negativa dos genes *GOLDEN2-LIKE 1* (*AtGLK1*) e *AtGLK2*, de maneira dependente de AtPIF4 (SONG et al., 2014). AtGLK1 e AtGLK2 são fatores de transcrição mantenedores do cloroplasto, regulando o desenvolvimento dessa organela e a biossíntese de clorofilas (WATERS et al., 2009). Em tomateiro, os genes *GLK* (*SIGLK1* e *SIGLK2*) exibem expressão diferencial, sendo que *SIGLK1* é mais transcrito nas folhas e *SIGLK2* é expresso apenas nos tecidos do fruto (NGUYEN et al., 2014).

O silenciamento de *SIPIF4* (*35S::SIPIF4^{RNAi}*) mostrou ser eficaz para retardar a senescência foliar induzida por idade (ROSADO et al., 2019). As folhas silenciadas permaneceram mais verdes que as do selvagem e análises da

abundância de transcritos evidenciaram níveis reduzidos dos genes-chave: *SISAG12*, *SIOR1S23*, *SIOR1S26* e *SISGR1* (ROSADO et al., 2019) Além disso, as folhas senescentes da transgênica *35S::SIP4^{RNAi}* exibiram níveis aumentados de *SIGLK1* e as alterações nesses transcritos regularam negativamente a senescência das folhas, retardando esse processo (ROSADO et al., 2019).

Como observado, os fitocromos controlam inúmeros aspectos de desenvolvimento da planta, atuando desde a germinação da semente até a senescência foliar. Na história da biologia vegetal, a compreensão do papel do fitocromo na regulação desses fenômenos advém, em sua maioria, de pesquisas conduzidas no modelo *A. thaliana*. Entretanto, nota-se um aumento significativo no volume de pesquisas dedicadas ao estudo da sinalização via fitocromos em espécies-modelo alternativas, bem como em espécies de interesse econômico, visando, entre outros fatores, elucidar se os mecanismos moleculares identificados em *A. thaliana* são conservados nas demais espécies e em outros aspectos do ciclo de vida das plantas.

Ademais, no caso de plantas de interesse agrônomo, há um interesse crescente no desenvolvimento de estratégias biotecnológicas envolvendo a manipulação de fotorreceptores e elementos das cascatas de transdução de sinais luminosos para ganhos na produção de alimentos, qualidade nutricional, resistência a estresses, entre outros; sendo essa área do conhecimento denominada fotobiotecnologia vegetal (GANESAN et al., 2017; GURURANI; GANESAN; SONG, 2015; MAWPHLANG; KHARSHIING, 2017).

O tomateiro, uma planta modelo de interesse agrônomo com frutos de relevância nutricional e alto valor de produção

O tomateiro (*S. lycopersicum*) é uma frutífera da família de Solanaceae, uma família botânica que engloba muitas culturas economicamente relevantes, incluindo a batata (*Solanum tuberosum*), a beringela (*Solanum melongena*), a pimenta (*Capsicum annuum*) e o tabaco (*Nicotiana tabacum*) (BERGOUIGNOUX, 2014; QUINET et al., 2019).

A produção mundial de tomate registrou aumentos consideráveis ao longo dos últimos anos e, mais recentemente, alcançou a marca de 186,8 milhões de toneladas (Mt) produzidas em cerca de 5,05 milhões de hectares (FAOSTAT, 2022). Nesse cenário, a Ásia figura como o principal continente produtor de tomate, representando 62,6% da produção global, seguida pelas Américas (13,1%), Europa (12,2%), África (11,9%) e Oceania (0,2%) (FAOSTAT, 2022). Dentre os maiores países produtores desse fruto, a China aparece em primeiro lugar com 64,7Mt de tomate e o Brasil ocupa a décima posição com 3,7Mt desse fruto carnoso (FAOSTAT, 2022).

A relevância econômica dessa *commodity* está intimamente associada ao seu crescente consumo, seja processado, na forma de sopas, molhos e sucos, ou *in natura*, motivado, em parte, pelo fato que o tomate contém inúmeras substâncias de valor nutricional para a saúde humana (ALI et al., 2021; BERGOUGNOUX, 2014; QUINET et al., 2019). O tomate é rico em inúmeros compostos antioxidantes, com destaque para licopeno, β -caroteno (pro-vitamina A), tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos (ALI et al., 2021; BERGOUGNOUX, 2014). Consequentemente, esse fruto carnoso representa uma potencial fonte de substâncias bioativas (de natureza dietética), destinadas ao combate de radicais livres para a prevenção de inúmeras doenças degenerativas e potenciais danos do envelhecimento (câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas) (ALI et al., 2021; BERGOUGNOUX, 2014).

Mais do que uma cultura alimentar de alto valor nutricional e de substancial interesse econômico, o tomateiro tem se destacado como um modelo vegetal alternativo à *A. thaliana* para diferentes vertentes de estudos, incluindo, logicamente, estudos sobre o desenvolvimento de frutos carnosos climatéricos (*vide* seção anterior) (CAMPOS et al., 2010; CARVALHO et al., 2011; GIOVANNONI, 2004).

Além de ser o principal modelo genético para estudos sobre frutos carnosos climatéricos, o tomateiro apresenta atributos que possibilitam investigar fenômenos da biologia vegetal até então difíceis ou improváveis de serem explorados no modelo *A. thaliana* (CAMPOS et al., 2010). Nesse contexto,

vale destacar que o tomateiro consiste em uma planta de dia neutro com crescimento simpodial, folhas compostas, tricomas glandulares e raízes micorrízicas (CARVALHO et al., 2011). *A. thaliana*, por sua vez, é uma planta de dia longo que apresenta crescimento monopodial, folhas simples, tricomas não-glandulares, raízes do tipo axial e frutos secos (MEINKE et al., 1998).

Além da relevância econômica, *S. lycopersicum* atende a premissas que o posiciona como um modelo promissor para o estudo da biologia vegetal, incluindo ciclo de vida curto, possibilidade de cultivo em larga escala, genoma completamente sequenciado (TOMATO GENOME CONSORTIUM, 2012) e protocolos bem estabelecidos de transformação genética estável e transiente (CARVALHO et al., 2011; PINO et al., 2010; QUADRANA et al., 2011; TOMATO GENOME CONSORTIUM, 2012).

Considerando que o tomateiro possui inúmeros atributos que o elege como uma espécie modelo alternativa à *A. thaliana*; e que os fitocromos desempenham papéis diversificados ao longo do ciclo de vida da planta, a manipulação de fitocromos nessa solanácea pode fornecer *insights* relevantes para a obtenção de cultivares aprimorados dessa espécie de relevância agronômica.

Explorando a diversificação funcional dos parálogos *SIPHYB1* e *SIPHYB2* e seus alelos constitutivamente ativos como estratégia fotobiotecnológica em tomateiro

Dada sua atuação a jusante (*upstream*) na via de sinalização luminosa, a manipulação genética dos níveis de *PHY* através da sobre-expressão desse fotorreceptor tem sido uma estratégia fotobiotecnológica recorrentemente adotada em estudos visando o melhoramento de culturas (ALVES et al., 2020; GANESAN et al., 2017; HUSAINID et al., 2007). Entretanto, com os avanços no conhecimento sobre a estrutura e funcionamento das moléculas dos fitocromos, uma nova abordagem surgiu no campo da fotobiotecnologia vegetal, a qual se baseia em mudanças na sequência de aminoácidos dos fotorreceptores visando alterar seus mecanismos de funcionamento,

estabilidade, intensidades de resposta, entre outros fatores (NAGATANI, 2010; SU; LAGARIAS, 2007).

Como exemplo dessa abordagem, estudos pioneiros em *A. thaliana* revelaram que uma mutação no módulo fotossensorial do fitocromo B interfere na fotoconversão e, subsequentemente, na sinalização desse fotorreceptor (OKA; KONG; MATSUSHITA, 2011; SU; LAGARIAS, 2007). A mutação consiste na substituição aminoacídica de Tyr-para-His na posição 276 do domínio GAF do AtPHYB (AtPHYB^{Y276H}) que resulta na ativação permanente desse fotorreceptor, independentemente do sinal luminoso (OKA; KONG; MATSUSHITA, 2011; SU; LAGARIAS, 2007). Um segundo mutante com ativação constitutiva de AtPHYB (AtPHYB^{Y303V}) foi obtido pela substituição de Tyr303-para-Val, e exibiu fotomorfogênese constitutiva em ausência de luz, de modo similar ao descrito para AtPHYB^{Y276H} (JEONG et al., 2016). Já a substituição aminoacídica de Tyr-para-His na posição 242 do domínio GAF do AtPHYA (AtPHYA^{Y242H}) resultou em respostas fotomorfogênicas parciais no escuro, isto é, a expansão do cotilédone, mas um ligeiro alongamento do hipocótilo (SU; LAGARIAS, 2007). Sendo que esse desestiolamento parcial evidenciado nas plantas portando AtPHYA^{Y242H} foi associado à reduzida estabilidade de AtPHYA (SU; LAGARIAS, 2007). Em conjunto, esses dados relevam o potencial biotecnológico da substituição de resíduos conservados de Tyr do domínio GAF de fitocromos A, e particularmente fitocromos B, para a obtenção de fitocromos constitutivamente ativos (JEONG et al., 2016; SU; LAGARIAS, 2007).

Desde a descoberta dos seus impactos em *A. thaliana*, a manipulação de sequências aminoacídicas dos PHYs tem sido proposta como uma estratégia interessante tanto para estudos fisiológicos da sinalização dos PHYs, quanto para fins de fotobiotecnologia (JEONG et al., 2016; OKA; KONG; MATSUSHITA, 2011; SU; LAGARIAS, 2007). O potencial biotecnológico dessa manipulação, como evidenciado inicialmente para o mutante AtPHYB^{Y276H}, reside na saturação das cascatas de sinalização desse fotorreceptor, ocasionando alterações fenotípicas ainda mais marcantes do que a sobre-expressão das sequências selvagens de AtPHYB (HU; SU; LAGARIAS, 2009; OKA; KONG; MATSUSHITA,

2011; SU; LAGARIAS, 2007). De fato, plântulas de *A. thaliana* portando a versão AtPHYB^{Y276H} crescidas no escuro exibem um fenótipo *cop* (hipocótilos curtos, cotilédones expandidos e diferenciação parcial de plastídios), indicando que a consequência funcional desta mutação é a ativação constitutiva de PHYB, independente de luz, o que não pode ser atingido pela simples sobre-expressão da sequência selvagem desse fotorreceptor (HU; SU; LAGARIAS, 2009; OKA; KONG; MATSUSHITA, 2011; SU; LAGARIAS, 2007).

A adoção de alelos PHYs com ativação constitutiva pode ser uma ferramenta bastante útil para regular inúmeros aspectos de desenvolvimento mediados pelo sinal luminoso, com vista à alteração de fenótipos de interesse comercial, tais como responsividade ao sombreamento, arquitetura vegetativa, tempo de florescimento, qualidade nutricional, entre outros. (HU et al., 2020; SU; LAGARIAS, 2007). Menos óbvio, mas igualmente relevante, seria empregar essa estratégia para investigar os impactos da saturação das vias de sinalização luminosa de PHYs e seus desdobramentos para a fisiologia da planta, a fim de caracterizar respostas causadas pela presença de versões hiperativas desses fotorreceptores (HU et al., 2020; OKA; KONG; MATSUSHITA, 2011; SU; LAGARIAS, 2007).

Uma espécie modelo particularmente interessante para estudos dessa natureza seria o tomateiro, que diferentemente de *A. thaliana*, possui dois genes *PHYB* (*SIPHYB1* e *SIPHYB2*), que se originaram a partir da triplicação completa do genoma de *Solanum* (ALBA et al., 2000; TOMATO GENOME CONSORTIUM, 2012). Curiosamente, *SIPHYB1* e *SIPHYB2* exibem expressão diferencial no tomateiro, onde *SIPHYB1* é mais expresso nos órgãos vegetativos (folhas) e em raízes, enquanto que *SIPHYB2* é mais abundantemente transcrito nos tecidos do fruto (BIANCHETTI et al., 2017; HAUSER; PRATT; CORDONNIER-PRATT, 1997).

Consistente com esse padrão de expressão, o silenciamento fruto-específico de *SIPHYB2* (*PPC2::SIPHYB2^{RNAi}*) em tomateiro promoveu impactos particularmente expressivos na carotenogênese e no acúmulo de açúcares, influenciando a qualidade e atributos associados ao *flavor* desse fruto carnoso (BIANCHETTI et al., 2018). Surpreendentemente, a sobre-expressão fruto-

específica no tomateiro, do alelo constitutivamente ativo de *SIPHYB2* (*PPC2::SIPHYB2^{Y252H}*), resultou em incrementos significativos em um maior número de parâmetros de qualidade do fruto, se comparado a uma abordagem similar utilizando seu alelo nativo/selvagem (*PPC2::SIPHYB2^{OE}*) (ALVES et al., 2020).

Um estudo clássico entre mutantes simples (*phyb1* e *phyb2*) de tomateiro mostrou haver uma possível diversificação funcional entre *SIPHYB1* e *SIPHYB2* no desestiolamento de plântulas (WELLER et al., 2000). Dentre esses dois parálogos, análises indicaram que *SIPHYB1* tem um papel predominante uma vez que plântulas de *phyb1*, em contraste com *phyb2*, sob luz vermelha contínua, exibiram um acentuado alongamento do hipocótilo e, nesse órgão, foi evidenciado uma drástica redução no acúmulo de pigmentos (antocianinas e clorofilas) (WELLER et al., 2000).

Análises posteriores revelaram que a sobre-expressão constitutiva desses fitocromos selvagens (*35S::SIPHYB1^{OE}* e *35S::SIPHYB2^{OE}*) em tomateiro resultou na redução em altura da planta, se comparado ao controle (WT) (HUSAINID et al., 2007). Contrastando com o que foi observado anteriormente para *slphyb1* e *slphyb2*, aqui o efeito da sobre-expressão de *SIPHYB2* foi mais pronunciado (ou seja, reduziu o alongamento do caule em até 50% e promoveu uma maior pigmentação das folhas), sugerindo que a sobre-expressão desses dois PHYBs mas, principalmente, *SIPHYB2* poderia induzir respostas fotomorfogênicas robustas (HUSAINID et al., 2007; WELLER et al., 2000).

Evidências também sugerem uma subfuncionalização entre *SIPHYB1* e *SIPHYB2* no controle da fotossíntese e espessamento foliar em tomateiro (CARLSON et al., 2020), uma vez que a atividade fotossintética foi positivamente regulada no mutante *slphyb1*, mas suprimida no mutante *slphyb2* (CARLSON et al., 2020). Constatou-se também que o teor de clorofila nas folhas dos mutantes não diferiu significativamente do genótipo selvagem, mas *slphyb2* apresentou maior massa foliar fresca que *slphyb1* (CARLSON et al., 2020).

Evidentemente, a subfuncionalização dos fitocromos B1/B2 em tomateiro ainda é um campo muito pouco explorado, com inúmeras lacunas acerca dos papéis desses fotorreceptores nessa espécie. Até o momento, relativamente

poucos estudos buscaram investigar a contribuição desses fitocromos para o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta após a fase de desestiolamento. Adicionalmente, pouco se sabe quais as contribuições de SIPHYB1 no desenvolvimento e amadurecimento do fruto carnoso; e, acima de tudo, inexistem estudos que avaliem os impactos da sobre-expressão constitutiva de alelos permanentemente ativos de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* sobre o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo dessa espécie agronomicamente relevante.

Em suma, a existência de dois genes *PHYB* (*SIPHYB1* e *SIPHYB2*) em tomateiro, os quais são diferencialmente expressos, aliado a particularidades dessa espécie comercial, abrem perspectivas interessantes para estudos acerca dos impactos das saturações das vias de sinalização desses dois parálogos durante todo o ciclo de vida do tomateiro. Estudos dessa natureza possuem o potencial não apenas de identificar o potencial fotobiotecnológico de cada um desses PHYBs, mas também entender um pouco melhor suas convergências e especificidades de resposta.

CONCLUSÃO

De modo geral, ambos os ortólogos de *AtPHYB* em tomateiro (*SIPHYB1* e *SIPHYB2*), quando expressos em suas versões constitutivamente ativas, compartilharam efeitos similares em muitos parâmetros, embora tenham sido observadas respostas mais dramáticas na biologia reprodutiva de *SIYHB2*, sugerindo uma possível subfuncionalização entre esses PHYBs para aspectos específicos do desenvolvimento da planta. As plantas de *SIYHB1* e de *SIYHB2* apresentaram características equivalentes no tocante à porção vegetativa, incluindo drástica redução do eixo principal (nanismo), atraso na liberação de gemas axilares, presença de folhas exageradamente verdes, que apresentavam maior massa fresca, além de um possível atraso na senescência foliar nos fitômeros basais. Contudo, a manipulação desses fitocromos resultou em efeitos parcialmente distintos entre os genótipos *SIYHB1* e *SIYHB2* no que diz respeito ao desenvolvimento reprodutivo dessas plantas. Ainda que todas as plantas transgênicas tenham formado menos flores por inflorescências, somente as linhagens de *SIYHB2* produziram menos frutos, sendo que estes exibiram uma regulação negativa global de genes-chave de biossíntese e sinalização de etileno, sugerindo um atraso no amadurecimento dos frutos de *SIYHB2*, quando comparado a *SIYHB1* ou ao selvagem. Ademais, os frutos de *SIYHB2*, em relação aos frutos de *SIYHB1*, possuíam mais clorofila no estágio verde e, conseqüentemente, um acúmulo mais pronunciado de tocoferóis no estágio vermelho. Além disso, quando comparados ao genótipo selvagem, somente os frutos maduros de *SIYHB2* exibiram níveis aumentados no teor total de carotenoides e °Brix, enquanto que os frutos de *SIYHB1* exibiram um conteúdo de carotenoides similar ao controle (WT), mas apresentaram níveis reduzidos de sólidos solúveis.

O conjunto de evidências experimentais obtidas a partir da sobre-expressão de alelos constitutivamente ativos de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* em tomateiro possibilitaram a caracterização de papéis, ora convergentes, ora específicos, para esses fitocromos. O monitoramento tanto de aspectos vegetativos, quanto reprodutivos de plantas de tomateiro, corroboram a hipótese de que a substituição de resíduos conservados de Tyr do domínio GAF resultam

na saturação da sinalização de PHYB independente da espécie vegetal analisada. No caso particular da saturação da sinalização de *SIYHB2*, os frutos maduros exibiram teores elevados de carotenoides totais, tocoferóis e um alto °Brix, atributos de qualidade nutricional de relevância no mercado, o que corroboraria a adoção dessa estratégia fotobiotecnológica para o cultivo de variedades comerciais de tomateiro, muito embora a produção de frutos nas plantas de *SIYHB2* tenha sido reduzida. Somado a isso, o atraso da senescência foliar possibilitaria, talvez, a manutenção de maiores taxas fotossintéticas nas folhas mais basais que, em última análise, promoveria uma maior disponibilidade de fotoassimilados, exportados aos frutos como sugerem os dados de °Brix nos frutos de *SIYHB2*. Esse último aspecto talvez seja particularmente relevante no caso de plantas expostas a condições ambientais estressantes, tais como seca, estresse térmico ou sombreamento, as quais não foram abordadas no presente trabalho, já que as plantas foram cultivadas sob condições de cultivo protegido em casa de vegetação. Por fim, a redução no alongamento do caule poderia ser vantajoso no contexto de cultivo em estufas agrícolas, permitindo, em teoria, o crescimento de plantas em condições mais adensadas, uma vez que, aparentemente, as respostas de evitação ao sombreamento foram fortemente atenuadas tanto em *SIYHB2* quanto em *SIYHB1*.

Considerando as múltiplas respostas metabólicas e de desenvolvimento atribuídas a manipulação constitutiva desses fotorreceptores hiperativados, esse estudo inicial coloca em perspectiva inúmeros aspectos a serem explorados futuramente nos genótipos *SIYHB1* e *SIYHB2*, incluindo:

(1) Quais rotas metabólicas e de desenvolvimento são moduladas pelos parálogos *SIPHYB1* e *SIPHYB2* durante o desenvolvimento inicial de plântulas de tomateiro? A germinação de sementes de *SIYHB1* e *SIYHB2*, em condições de escuro, com a subsequente análise dos perfis metabólicos e transcricionais nos diferentes tecidos das plântulas (raízes, hipocótilos e cotilédones), poderia revelar as rotas metabólicas e de desenvolvimento reguladas pelos parálogos *SIPHYB1* e *SIPHYB2*, sem a interferência da ativação de outros fotorreceptores.

(2) A atenuação do crescimento vertical seria devido à expansão e/ou à densidade de células nesse tecido? Esse efeito poderia ser correlacionado a teores reduzidos de auxinas? A dosagem dos níveis de auxinas, em combinação a análises da abundância de transcritos de genes-chave de biossíntese e sinalização desse hormônio, poderia revelar se a íntima relação, já descrita para *Arabidopsis* entre PHYB e auxinas, também explicaria o menor alongamento caulinar detectado nas plantas de *SIYHB1* e *SIYHB2*. Ademais, análises anatômicas de cortes histológicos de seções do caule, especialmente em regiões dos entrenós basais, poderiam elucidar se tais diferenças de altura das plantas se deve a alterações na expansão ou proliferação celular, ou ambas.

(3) O atraso na perda da dominância apical das linhagens transgênicas estaria associada a modificações nas vias hormonais e/ou na partição de açúcares? A investigação dos níveis de auxinas, citocininas e estrigolactonas, e suas rotas de sinalização, seria um ponto de partida interessante para se descobrir a interconexão dessas vias e seus efeitos a jusante (*downstream*) no padrão de ramificação dessas plantas transgênicas. Em adição, análises das taxas fotossintéticas e do balanço de carbono, em plantas em diferentes fases de desenvolvimento, poderia trazer importantes informações sobre o *status* de carbono e seus impactos sobre a liberação tardia no desenvolvimento das gemas laterais.

(4) O ganho em massa fresca evidenciado nas folhas estaria correlacionado ao espessamento do tecido foliar em decorrência do alongamento e/ou proliferação celular? Análises de área foliar – unitária e total – aliadas a análises anatômicas de seções de tecidos foliares, acrescentariam camadas adicionais de informações acerca dos impactos das rotas de sinalização dos fitocromos sobre o desenvolvimento foliar em tomateiro.

(5) Os teores elevados de clorofilas detectados em folhas e frutos verdes de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* estariam correlacionados ao aumento na abundância e/ou a incrementos na ultraestrutura plastidial? Para investigar as razões por trás do acúmulo exacerbado de clorofilas em diferentes órgãos da planta – folhas e frutos – análises de abundância (microscopia óptica) e

ultraestrutura plastidial (microscopia eletrônica de transmissão) poderiam revelar se o aumento nos teores desse pigmento estaria associado a um número elevado de plastídios e/ou a um maior desenvolvimento dessas organelas. Ademais, análises de expressão de genes associados a rota biossintética das clorofilas (e.g., *SIPOR1*) e a divisão dos plastídios (e.g., *SIPDV2*) forneceriam evidências moleculares essenciais à compreensão desses processos.

(6) O possível atraso na senescência foliar em *SIPHYB1* e *SIPHYB2* envolveria alterações na sinalização hormonal? Esse fenótipo de longevidade foliar aumentada estaria associado a incrementos das taxas fotossintéticas? Análises da homeostase de fitormônios, tais como auxinas, citocininas e etileno, acrescentariam mais informações acerca da interação entre PHYB-hormônios no controle da senescência foliar. Ademais, a inclusão de análises da performance fotossintética e fluorescência da clorofila das folhas poderiam fornecer dados relevantes com relação a esses aspectos, mas também dar indícios do potencial dessa manipulação biotecnológica na modulação de açúcares, conforme sugerido pelos dados preliminares medidos em escala °Brix.

(7) O atraso na floração e a produção de menos flores por inflorescência seriam devido à regulação negativa de componentes-chave do florescimento em tomateiro? Análises adicionais, tais como o acompanhamento do número de dias necessários à antese da primeira flor, juntamente da mensuração do número de folhas produzidas anteriormente ao florescimento, poderiam confirmar a ocorrência de um atraso na transição floral nas linhagens transgênicas. Na sequência, dados de expressão de genes de floração, como *SISFT* nas folhas e *SIFA* na porção apical do caule, expandiria a compreensão desse fenótipo.

(8) O impacto negativo na produção de frutos das plantas de *SIYHB2* estaria correlacionado a efeitos deletérios nos gametófitos masculinos e/ou femininos das flores? Uma estratégia para aliviar essa possibilidade consistiria na análise das porcentagens de frutos formados em experimentos de cruzamento entre WT e *SIYHB2*. A transferência de pólen de *SIYHB2* para o ovário de plantas selvagens, e vice-versa, com a mensuração da taxa de pegamento de frutos (*fruit set*) nesses genótipos seria um modo de investigar a

viabilidade polínica e a funcionalidade do ovário de *SIYHB2*. Além disso, análises *in vitro* de viabilidade e taxa de germinação dos grãos de pólen de *SIYHB2* poderiam complementar essa investigação.

(9) O aparente atraso na fase de amadurecimento dos frutos transgênicos estaria correlacionado com as taxas de emissão de etileno pelos frutos? Teores elevados de licopeno nos frutos transgênicos poderiam ser detectados em estágios mais avançados de amadurecimento? A dosagem do teor de ACC, da emissão de etileno e da atividade de ACO, seriam essenciais para investigar se há correlação entre esse fenótipo de amadurecimento tardio nos frutos das transgênicas e o metabolismo de etileno. Ademais, a expressão de outros genes do metabolismo e sinalização de etileno, assim como de reguladores mestres do amadurecimento (*e.g.*, *SIRIN*, *SINOR*) trariam mais evidências a respeito desse aspecto. Além disso, a mensuração de perfis de carotenoides em frutos maduros em estágios mais avançados de amadurecimento (*e.g.*, estágio Bk21), em adição a expressão de genes que codificam para enzimas-chave que direcionam a conversão de fitoflueno em licopeno (*e.g.*, ζ -*CAROTENE DESATURASE/SIZDS* e *CAROTENOID ISOMERASE/SICRTISO*), seriam necessários para determinar se houve um efeito permanente ou apenas um atraso no acúmulo de licopeno nessas transgênicas.

(10) A eventual supressão de fenótipos correlacionados ao SAS (*e.g.*, drástica redução do crescimento, senescência foliar retardada e impactos na floração), observado nas plantas cultivadas em condições naturais de luminosidade, seria mantido em condições de sombreamento (baixa razão F:FR)? A condução de experimentos envolvendo o cultivo das plantas transgênicas e suas contrapartes selvagens em ambientes com baixas e altas razões de R:FR, poderia trazer informações valiosas sobre o potencial de utilização dessas linhagens para cultivo em condições de alta densidade vegetativa. Assim sendo, esses procedimentos forneceriam dados mais robustos acerca do impacto dessa manipulação fotobioteecnológica de tomateiro como uma estratégia à supressão de SAS.

(11) Os genótipos SIYHB1 e SIYHB2 teriam vantagens em condições estressantes, tais como seca ou alta temperatura? Tendo em vista as alterações drásticas do clima em virtude do aquecimento global, a obtenção de culturas agrícolas tolerantes à seca tem surgido como um dos tópicos mais investigados nos últimos anos. Dado que a manipulação de *SIYHB1* e de *SIYHB2* resultou em folhas com elevada massa fresca, esse efeito poderia estar associado a reduzida perda de água por transpiração e, conseqüentemente, uma potencial resistência à seca. Assim, experimentos de estresse hídrico com a mensuração de parâmetros relacionados ao desempenho de ganho de carbono, *status* hídrico, homeostase redox, relação raiz/parte aérea e dosagem de hormônios de sinalização de seca (e.g., ABA) poderiam prover informações iniciais sobre esse aspecto. Ademais, considerando que o alelo YH em *Arabidopsis* (*35S::PHYB^{Y276H}*) é pouco responsivo à reversão térmica (HUANG et al., 2019), a hiperativação de *SIPHYB1* e *SIPHYB2* em tomateiro poderia, em teoria, impactar significativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas sob condições de temperaturas elevadas (termomorfogênese), uma vez que, nessas condições, o *pool* de PHYB ativo no núcleo é reduzido (LEGRIS et al., 2016). Logo, investigar o crescimento de plântulas/plantas de *SIYHB1* e *SIYHB2* sob influência desse fator ambiental é um caminho promissor para pesquisas futuras.

Em suma, as informações obtidas ao longo de nossa pesquisa podem contribuir para a compreensão dos impactos dos fitocromos B1 e B2 no controle do desenvolvimento do tomateiro, considerando que a literatura atualmente disponível acerca dessa temática continua centrada na planta-modelo *A. thaliana*, cujo genoma codifica para um único PHYB. Para além disso, os dados obtidos através de nosso estudo, fornecem informações acerca dos impactos da saturação da sinalização de ambos os PHYBs em diversos aspectos de desenvolvimento do tomateiro (*i.e.*, vegetativo e reprodutivo), não se restringindo apenas ao desenvolvimento e qualidade nutricional de seus frutos, como observado em linhagens de tomateiro com sobre-expressão fruto-específica de *SIYHB2* (*PPC2::SIYHB2*).

REFERÊNCIAS

- ABE, M. et al. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. **Science**, v. 309, n. 5737, p. 1052–1056, 12 ago. 2005.
- AGUILAR-MARTÍNEZ, J. A.; POZA-CARRIÓN, C.; CUBAS, P. Arabidopsis BRANCHED1 Acts as an Integrator of Branching Signals within Axillary Buds. **The Plant Cell**, v. 19, n. 2, p. 458, 2007.
- ALBA, R. et al. The Phytochrome Gene Family in Tomato and the Rapid Differential Evolution of this Family in Angiosperms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 17, n. 3, p. 362–373, 1 mar. 2000.
- ALI, M. Y. et al. Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Tomatoes and Their Impact on Human Health and Disease: A Review. **Foods**, v. 10, n. 1, 1 jan. 2021.
- ALMEIDA, J. et al. Genetic dissection of vitamin E biosynthesis in tomato. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 11, p. 3781–3798, jul. 2011.
- ALMEIDA, J. et al. Fruits from ripening impaired, chlorophyll degraded and jasmonate insensitive tomato mutants have altered tocopherol content and composition. **Phytochemistry**, v. 111, p. 72–83, 2015.
- ALMEIDA, J. et al. Down-regulation of tomato PHYTOL KINASE strongly impairs tocopherol biosynthesis and affects prenillipid metabolism in an organ-specific manner. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 3, p. 919–934, 1 fev. 2016.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R. et al. Flower Development. **The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists**, v. 8, p. e0127, jan. 2010.
- ALVES, F. R. R. et al. Beyond the limits of photoperception: constitutively active PHYTOCHROME B2 overexpression as a means of improving fruit nutritional quality in tomato. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 10, p. 2027–2041, 1 out. 2020.
- ANDRÉS, F.; COUPLAND, G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. **Nature Reviews Genetics** 2012, v. 13, n. 9, p. 627–639, 17 ago. 2012.
- ARSOVSKI, A. A. et al. Photomorphogenesis. **The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists**, v. 10, p. e0147, jan. 2012.
- BAE, G.; CHOI, G. Decoding of Light Signals by Plant Phytochromes and Their Interacting Proteins. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 281–311, 29 abr. 2008.

BALAZADEH, S. et al. A gene regulatory network controlled by the NAC transcription factor ANAC092/AtNAC2/ORE1 during salt-promoted senescence. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 62, n. 2, p. 250–264, abr. 2010.

BALAZADEH, S.; RIAÑO-PACHÓN, D. M.; MUELLER-ROEBER, B. Transcription factors regulating leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology**, v. 10, n. SUPPL. 1, p. 63–75, set. 2008.

BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SÁNCHEZ, R. A. Photocontrol of stem elongation in plant neighbourhoods: effects of photon fluence rate under natural conditions of radiation. **Plant, Cell & Environment**, v. 14, n. 1, p. 57–65, 1 jan. 1991.

BENTSINK, L.; KOORNNEEF, M. Seed Dormancy and Germination. **The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists**, v. 6, p. e0119, jan. 2008.

BERGOUGNOUX, V. The history of tomato: From domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 1, p. 170–189, 1 jan. 2014.

BIAN, W. et al. Metabolic and Molecular Events Occurring during Chromoplast Biogenesis. **Journal of Botany**, v. 2011, p. 1–13, 15 set. 2011.

BIANCHETTI, R. E. et al. Phytochromobilin deficiency impairs sugar metabolism through the regulation of cytokinin and auxin signaling in tomato fruits. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.

BIANCHETTI, R. E. et al. Fruit-localized phytochromes regulate plastid biogenesis, starch synthesis, and carotenoid metabolism in tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 15, p. 3573–3586, 27 jun. 2018.

BOOKER, J.; CHATFIELD, S.; LEYSER, O. Auxin Acts in Xylem-Associated or Medullary Cells to Mediate Apical Dominance. **The Plant Cell**, v. 15, n. 2, p. 495, 1 fev. 2003.

BORTHWICK, H. A. et al. A Reversible Photoreaction Controlling Seed Germination. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 38, n. 8, p. 662, ago. 1952.

BORTHWICK, H. A. et al. Action of Light on Lettuce-Seed Germination. **Botanical Gazette**, v. 115, p. 205–225, 1954.

BORTHWICK, H. A. Light Effects on Tree Growth and Seed Germination. **The Ohio Journal Of Science**, v. 57, n. 6, p. 357–364, 1957.

BUCHANAN-WOLLASTON, V. et al. The molecular analysis of leaf senescence – a genomics approach. **Plant Biotechnology Journal**, v. 1, n. 1, p. 3–22, 1 jan. 2003.

- BURGIE, E. S.; VIERSTRA, R. D. Phytochromes: An Atomic Perspective on Photoactivation and Signaling. **The Plant Cell**, v. 26, n. 12, p. 4568, 2014.
- BUTLER, W. L. et al. Detection, Assay, and Preliminary Purification of the Pigment Controlling Photoresponsive Development of Plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 45, n. 12, p. 1703, dez. 1959.
- CAMPOS, M. L. et al. Small and remarkable: The Micro-Tom model system as a tool to discover novel hormonal functions and interactions. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 3, p. 267, 2010.
- CAO, K. et al. Phytochrome B1-dependent control of SP5G transcription is the basis of the night break and red to far-red light ratio effects in tomato flowering. **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 6 ago. 2018.
- CARLSON, K. D. et al. Subfunctionalization of phytochrome B1/B2 leads to differential auxin and photosynthetic responses. **Plant Direct**, v. 4, n. 2, p. e00205, 1 fev. 2020.
- CARRARI, F.; FERNIE, A. R. Metabolic regulation underlying tomato fruit development. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 9, p. 1883–1897, 1 jun. 2006.
- CARVALHO, R. F. et al. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: “Micro-Tom” as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, v. 7, n. 1, p. 18, 29 jun. 2011.
- CASAL, J. J. Photoreceptor Signaling Networks in Plant Responses to Shade. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 403–427, 2 maio 2013.
- CASAL, J. J.; BALASUBRAMANIAN, S. Thermomorphogenesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 321–346, 29 abr. 2019.
- CASAL, J. J.; SÁNCHEZ, R. A. Phytochromes and seed germination. **Seed Science Research**, v. 8, n. 3, p. 317–329, 1998.
- CERDÁN, P. D.; CHORY, J. Regulation of flowering time by light quality. **Nature**, v. 423, n. 6942, p. 881–885, 19 jun. 2003.
- CHAVES, I. et al. The Cryptochromes: Blue Light Photoreceptors in Plants and Animals. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, p. 335–364, 28 abr. 2011.
- CHEN, C. et al. Light-Regulated Stomatal Aperture in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 5, n. 3, p. 566–572, 1 maio 2012.
- CHEN, M. et al. Regulation of Phytochrome B Nuclear Localization through Light-Dependent Unmasking of Nuclear-Localization Signals. **Current Biology**, v. 15, n. 7, p. 637–642, 12 abr. 2005.

- CHEN, M.; CHORY, J. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. **Trends in cell biology**, v. 21, n. 11, p. 664, nov. 2011.
- CHEN, M.; CHORY, J.; FANKHAUSER, C. Light Signal Transduction in Higher Plants. **Annual Review of Genetics**, v. 38, p. 87–117, 29 nov. 2004.
- CHEN, M.; SCHWAB, R.; CHORY, J. Characterization of the requirements for localization of phytochrome B to nuclear bodies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. SUPPL. 2, p. 14493–14498, 25 nov. 2003.
- CHENG, M. C. et al. Phytochrome Signaling Networks. **Annual Review of Plant Biology**, v. 72, p. 217–244, 18 jun. 2021.
- CHERRY, J. R. et al. Phytochrome requires the 6-kDa N-terminal domain for full biological activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 11, p. 5039, 6 jun. 1992.
- CHORY, J. Light signal transduction: an infinite spectrum of possibilities. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 61, n. 6, p. 982, mar. 2010.
- CHRISTIE, J. M. Phototropin Blue-Light Receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 21–45, 1 maio 2007.
- COOKSON, P. J. et al. Increases in cell elongation, plastid compartment size and phytoene synthase activity underlie the phenotype of the high pigment-1 mutant of tomato. **Planta**, v. 217, n. 6, p. 896–903, 3 out. 2003.
- CRUZ, A. B. et al. Light, ethylene and auxin signaling interaction regulates carotenoid biosynthesis during tomato fruit ripening. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1370, 18 set. 2018.
- DAVIES, J. N.; HOBSON, G. E. The constituents of tomato fruit--the influence of environment, nutrition, and genotype. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 15, n. 3, p. 205–280, 1981.
- DE WIT, M. et al. Integration of Phytochrome and Cryptochrome Signals Determines Plant Growth during Competition for Light. **Current Biology**, v. 26, n. 24, p. 3320–3326, 19 dez. 2016.
- DE WIT, M.; GALVÃO, V. C.; FANKHAUSER, C. Light-Mediated Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, p. 513–537, 29 abr. 2016.
- DEMOTES-MAINARD, S. et al. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. **Environmental and Experimental Botany**, v. 121, p. 4–21, 1 jan. 2016.
- DOEBLEY, J.; STEC, A.; HUBBARD, L. The evolution of apical dominance in maize. **Nature**, v. 386, n. 6624, p. 485–488, 3 abr. 1997.

- DOMAGALSKA, M. A.; LEYSER, O. Signal integration in the control of shoot branching. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 12, n. 4, p. 211–221, 23 mar. 2011.
- EGEA, I. et al. Chromoplast Differentiation: Current Status and Perspectives. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 10, p. 1601–1611, 1 out. 2010.
- EL-SHOWK, S.; RUONALA, R.; HELARIUTTA, Y. Crossing paths: cytokinin signalling and crosstalk. **Development**, v. 140, n. 7, p. 1373–1383, 1 abr. 2013.
- ENDO, M. et al. Phytochrome-dependent late-flowering accelerates flowering through physical interactions with phytochrome B and CONSTANS. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 44, p. 18017–18022, 29 out. 2013.
- ENDO, M.; ARAKI, T.; NAGATANI, A. Tissue-specific regulation of flowering by photoreceptors. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 4, p. 829–839, 30 nov. 2015.
- ESSEN, L. O.; MAILLIET, J.; HUGHES, J. The structure of a complete phytochrome sensory module in the Pr ground state. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 38, p. 14709, 9 set. 2008.
- FAOSTAT. **FAOSTAT**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 23 jan. 2022.
- FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **The New Phytologist**, v. 171, n. 3, p. 501–523, 1 jan. 2006.
- FINLAYSON, S. A. et al. Phytochrome Regulation of Branching in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 152, n. 4, p. 1914, 2010.
- FIORUCCI, A. S.; FANKHAUSER, C. Plant Strategies for Enhancing Access to Sunlight. **Current Biology**, v. 27, n. 17, p. R931–R940, 11 set. 2017.
- FRANKLIN, K. A.; QUAIL, P. H. Phytochrome functions in Arabidopsis development. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 1, p. 11–24, 1 jan. 2010.
- FRASER, D. P.; HAYES, S.; FRANKLIN, K. A. Photoreceptor crosstalk in shade avoidance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 33, p. 1–7, 1 out. 2016.
- GANESAN, M. et al. Development of transgenic crops based on photo-biotechnology. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 11, p. 2469–2486, 1 nov. 2017.
- GANGAPPA, S. N.; BOTTO, J. F. The BBX family of plant transcription factors. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 7, p. 460–470, 1 jul. 2014.

- GANGAPPA, S. N.; BOTTO, J. F. The Multifaceted Roles of HY5 in Plant Growth and Development. **Molecular Plant**, v. 9, n. 10, p. 1353–1365, 10 out. 2016.
- GILLASPY, G.; BEN-DAVID, H.; GRUISSEM', W. Fruits: A Developmental Perspective. **The Plant Cell**, v. 5, n. 10, p. 1439, 1 out. 1993.
- GIOVANNONI, J. J. Genetic regulation of fruit development and ripening. **The Plant Cell**, v. 16, n. suppl_1, p. S170–S180, 2004.
- GONZÁLEZ-GRANDÍO, E. et al. BRANCHED1 promotes axillary bud dormancy in response to shade in Arabidopsis. **The Plant cell**, v. 25, n. 3, p. 834–850, 2013.
- GRAMEGNA, G. et al. PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 3 mediates light-dependent induction of tocopherol biosynthesis during tomato fruit ripening. **Plant, cell & environment**, v. 42, n. 4, p. 1328–1339, 1 abr. 2019.
- GURURANI, M. A.; GANESAN, M.; SONG, P. S. Photo-biotechnology as a tool to improve agronomic traits in crops. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 1, p. 53–63, 1 jan. 2015.
- HAUSER, B. A.; PRATT, L. H.; CORDONNIER-PRATT, M. M. Absolute quantification of five phytochrome transcripts in seedlings and mature plants of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Planta**, v. 201, n. 3, p. 379–387, mar. 1997.
- HEIJDE, M.; ULM, R. UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 4, p. 230–237, 1 abr. 2012.
- HILTBRUNNER, A. et al. Nuclear accumulation of the phytochrome A photoreceptor requires FHY1. **Current biology**, v. 15, n. 23, p. 2125–2130, 6 dez. 2005.
- HILTBRUNNER, A. et al. FHY1 and FHL Act Together to Mediate Nuclear Accumulation of the Phytochrome A Photoreceptor. **Plant and Cell Physiology**, v. 47, n. 8, p. 1023–1034, 1 ago. 2006.
- HOANG, Q. T. N.; HAN, Y. J.; KIM, J. IL. Plant phytochromes and their phosphorylation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 14, 2 jul. 2019.
- HORNITSCHKEK, P. et al. Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. **The Plant Journal**, v. 71, n. 5, p. 699–711, 1 set. 2012.
- HOUBEN, M.; VAN DE POEL, B. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO): The enzyme that makes the plant hormone ethylene. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 31 maio 2019.
- HU, W. et al. Regulation of monocot and dicot plant development with

constitutively active alleles of phytochrome B. **Plant Direct**, v. 4, n. 4, p. e00210, 1 abr. 2020.

HU, W.; SU, Y. S.; LAGARIAS, J. C. A Light-Independent Allele of Phytochrome B Faithfully Recapitulates Photomorphogenic Transcriptional Networks. **Molecular Plant**, v. 2, n. 1, p. 166, 2009.

HUANG, H. et al. PCH1 regulates light, temperature, and circadian signaling as a structural component of phytochrome B-photobodies in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 17, p. 8603–8608, 4 abr. 2019.

HUQ, E. et al. Phytochrome-interacting factor 1 is a critical bHLH: Regulator of chlorophyll biosynthesis. **Science**, v. 305, n. 5692, p. 1937–1941, 24 set. 2004.

HUQ, E.; AL-SADY, B.; QUAIL, P. H. Nuclear translocation of the photoreceptor phytochrome B is necessary for its biological function in seedling photomorphogenesis. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, v. 35, n. 5, p. 660–664, set. 2003.

HUSAINID, S. S. H. et al. Overexpression of homologous phytochrome genes in tomato: exploring the limits in photoperception. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 3, p. 615–626, 1 fev. 2007.

IGLESIAS, M. J. et al. Multiple links between shade avoidance and auxin networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 213–228, 4 jan. 2018.

IRISH, V. F.; SUSSEX, I. M. Function of the apetala-1 gene during Arabidopsis floral development. **The Plant Cell**, v. 2, n. 8, p. 741, 1990.

ITO, S.; SONG, Y. H.; IMAIZUMI, T. LOV Domain-Containing F-Box Proteins: Light-Dependent Protein Degradation Modules in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 5, n. 3, p. 573–582, 1 maio 2012.

JAMES, M. et al. SAG12, a Major Cysteine Protease Involved in Nitrogen Allocation during Senescence for Seed Production in Arabidopsis thaliana. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, n. 10, p. 2052–2063, 1 out. 2018.

JANG, S. et al. Arabidopsis COP1 shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response. **The EMBO Journal**, v. 27, n. 8, p. 1277, 4 abr. 2008.

JEONG, A. R. et al. New Constitutively Active Phytochromes Exhibit Light-Independent Signaling Activity. **Plant Physiology**, v. 171, n. 4, p. 2826, 1 ago. 2016.

JUNG, C. et al. Editorial: Recent advances in flowering time control. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 2011, 5 jan. 2017.

JUNG, J. H. et al. Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis. **Science**, v. 354, n. 6314, p. 886–889, 18 nov. 2016.

KALAITZOGLU, P. et al. Effects of continuous or end-of-day far-red light on tomato plant growth, morphology, light absorption, and fruit production. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 322, 22 mar. 2019.

KAMI, C. et al. Light-Regulated Plant Growth and Development. **Current Topics in Developmental Biology**, v. 91, n. C, p. 29–66, 1 jan. 2010.

KEBROM, T. H.; BURSON, B. L.; FINLAYSON, S. A. Phytochrome B Represses Teosinte Branched1 Expression and Induces Sorghum Axillary Bud Outgrowth in Response to Light Signals. **Plant Physiology**, v. 140, n. 3, p. 1109, 2006.

KEUSKAMP, D. H. et al. Auxin transport through PIN-FORMED 3 (PIN3) controls shade avoidance and fitness during competition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 52, p. 22740–22744, 28 dez. 2010.

KIM, K. et al. PIF1 Regulates Plastid Development by Repressing Photosynthetic Genes in the Endodermis. **Molecular Plant**, v. 9, n. 10, p. 1415–1427, 10 out. 2016.

KIRCHENBAUER, D. et al. Characterization of photomorphogenic responses and signaling cascades controlled by phytochrome-A expressed in different tissues. **New Phytologist**, v. 211, n. 2, p. 584–598, 1 jul. 2016.

KLEE, H. J.; GIOVANNONI, J. J. Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. **Annual Review of Genetics**, v. 45, p. 41–59, 7 nov. 2011.

KLOSE, C. et al. Molecular mechanisms for mediating light-dependent nucleo/cytoplasmic partitioning of phytochrome photoreceptors. **The New phytologist**, v. 206, n. 3, p. 965–971, 1 maio 2015.

KOLOTILIN, I. et al. Transcriptional Profiling of high pigment-2dg Tomato Mutant Links Early Fruit Plastid Biogenesis with Its Overproduction of Phytonutrients. **Plant Physiology**, v. 145, n. 2, p. 389, 2007.

KÜPERS, J. J.; VAN GELDEREN, K.; PIERIK, R. Location Matters: Canopy Light Responses over Spatial Scales. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 10, p. 865–873, 1 out. 2018.

KUREPIN, L. V. et al. Uncoupling light quality from light irradiance effects in Helianthus annuus shoots: putative roles for plant hormones in leaf and internode growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 8, p. 2145–2157, 1 jun. 2007.

LAGARIAS, J. C.; MERCURIO, F. M. Structure function studies on

phytochrome. Identification of light-induced conformational changes in 124-kDa Avena phytochrome in vitro. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 4, p. 2415–2423, 25 fev. 1985.

LAZARO, A. et al. Red Light-Mediated Degradation of CONSTANS by the E3 Ubiquitin Ligase HOS1 Regulates Photoperiodic Flowering in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 27, n. 9, p. 2437, 2015.

LEE, J. et al. Analysis of Transcription Factor HY5 Genomic Binding Sites Revealed Its Hierarchical Role in Light Regulation of Development. **The Plant Cell**, v. 19, n. 3, p. 731, 2007.

LEE, J. et al. SOC1 translocated to the nucleus by interaction with AGL24 directly regulates leafy. **The Plant Journal**, v. 55, n. 5, p. 832–843, set. 2008.

LEGRIS, M. et al. Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. **Science**, v. 354, n. 6314, p. 897–900, 18 nov. 2016.

LEGRIS, M.; INCE, Y. Ç.; FANKHAUSER, C. Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 19 nov. 2019.

LEIVAR, P. et al. Multiple phytochrome-interacting bHLH transcription factors repress premature photomorphogenesis during early seedling development in darkness. **Current biology**, v. 18, n. 23, p. 1815, 12 dez. 2008.

LEIVAR, P.; MONTE, E. PIFs: Systems Integrators in Plant Development. **The Plant Cell**, v. 26, n. 1, p. 56, 2014.

LEIVAR, P.; QUAIL, P. H. PIFs: pivotal components in a cellular signaling hub. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 1, p. 19–28, 1 jan. 2011.

LI, F. W.; MATHEWS, S. Evolutionary aspects of plant photoreceptors. **Journal of Plant Research**, v. 129, n. 2, p. 115–122, 1 mar. 2016.

LI, L. et al. Linking photoreceptor excitation to changes in plant architecture. **Genes & Development**, v. 26, n. 8, p. 785–790, 15 abr. 2012.

LIFSCHITZ, E.; ESHED, Y. Universal florigenic signals triggered by FT homologues regulate growth and flowering cycles in perennial day-neutral tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 13, p. 3405–3414, 1 out. 2006.

LIM, J. et al. Antagonistic Roles of PhyA and PhyB in Far-Red Light-Dependent Leaf Senescence in Arabidopsis thaliana. **Plant and Cell Physiology**, v. 59, n. 9, p. 1753–1764, 1 set. 2018.

LIN, Z.; ZHONG, S.; GRIERSON, D. Recent advances in ethylene research. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 12, p. 3311–3336, 1 ago. 2009.

- LIU, B. et al. Arabidopsis cryptochrome 1 interacts with SPA1 to suppress COP1 activity in response to blue light. **Genes & Development**, v. 25, n. 10, p. 1029, 5 maio 2011.
- LIU, M. et al. Ethylene Control of Fruit Ripening: Revisiting the Complex Network of Transcriptional Regulation. **Plant Physiology**, v. 169, n. 4, p. 2380, 1 dez. 2015.
- LIU, M. et al. Comprehensive Profiling of Ethylene Response Factor Expression Identifies Ripening-Associated ERF Genes and Their Link to Key Regulators of Fruit Ripening in Tomato. **Plant Physiology**, v. 170, n. 3, p. 1732, 1 mar. 2016.
- LIU, Y. et al. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 26, p. 9897–9902, 6 jun. 2004.
- LLORENTE, B. et al. Tomato fruit carotenoid biosynthesis is adjusted to actual ripening progression by a light-dependent mechanism. **The Plant Journal**, v. 85, n. 1, p. 107–119, 1 jan. 2016.
- LLORENTE, B. et al. Illuminating colors: regulation of carotenoid biosynthesis and accumulation by light. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 37, p. 49–55, 1 jun. 2017.
- LLORENTE, B.; D'ANDREA, L.; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. Evolutionary recycling of light signaling components in fleshy fruits: New insights on the role of pigments to monitor ripening. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. MAR2016, p. 263, 7 mar. 2016.
- MARTÍN-TRILLO, M. et al. Role of tomato BRANCHED1-like genes in the control of shoot branching. **The Plant Journal**, v. 67, n. 4, p. 701–714, 1 ago. 2011.
- MATALLANA-RAMIREZ, L. P. et al. NAC Transcription Factor ORE1 and Senescence-Induced BIFUNCTIONAL NUCLEASE1 (BFN1) Constitute a Regulatory Cascade in Arabidopsis. **Molecular Plant**, v. 6, n. 5, p. 1438–1452, 1 set. 2013.
- MATHEWS, S. Phytochrome-mediated development in land plants: red light sensing evolves to meet the challenges of changing light environments. **Molecular Ecology**, v. 15, n. 12, p. 3483–3503, 1 out. 2006.
- MATSUSHITA, T.; MOCHIZUKI, N.; NAGATANI, A. Dimers of the N-terminal domain of phytochrome B are functional in the nucleus. **Nature**, v. 424, n. 6948, p. 571–574, 31 jul. 2003.
- MAWPHLANG, O. I. L.; KHARSHIING, E. V. Photoreceptor mediated plant growth responses: Implications for photoreceptor engineering toward improved performance in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1181, 11 jul. 2017.

MEINKE, D. W. et al. Arabidopsis thaliana: A model plant for genome analysis. **Science**, v. 282, n. 5389, 23 out. 1998.

MIYAWAKI, K.; MATSUMOTO-KITANO, M.; KAKIMOTO, T. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in Arabidopsis: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. **The Plant Journal**, v. 37, n. 1, p. 128–138, 1 jan. 2004.

MOCKLER, T. et al. Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 4, p. 2140, 2 fev. 2003.

MOCKLER, T. C. et al. Antagonistic actions of Arabidopsis cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction. **Development**, v. 126, n. 10, p. 2073–2082, 1999.

MÖGLICH, A. et al. Structure and Function of Plant Photoreceptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 21–47, 4 maio 2010.

MOLINERO-ROSALES, N. et al. FALSIFLORA, the tomato orthologue of FLORICAULA and LEAFY, controls flowering time and floral meristem identity. **The Plant Journal**, v. 20, n. 6, p. 685–693, 1 dez. 1999.

MOON, J. et al. Analysis of Flowering Pathway Integrators in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 46, n. 2, p. 292–299, 1 fev. 2005.

MUSTILLI, A. C. et al. Phenotype of the tomato high pigment-2 mutant is caused by a mutation in the tomato homolog of DEETIOLATED1. **The Plant Cell**, v. 11, n. 2, p. 145, 1999.

NAGANO, S. From photon to signal in phytochromes: similarities and differences between prokaryotic and plant phytochromes. **Journal of Plant Research**, v. 129, n. 2, p. 123–135, 1 mar. 2016.

NAGATANI, A. Light-regulated nuclear localization of phytochromes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, n. 6, p. 708–711, 1 dez. 2004.

NAGATANI, A. Phytochrome: structural basis for its functions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 5, p. 565–570, 1 out. 2010.

NGUYEN, C. V. et al. Tomato GOLDEN2-LIKE Transcription Factors Reveal Molecular Gradients That Function during Fruit Development and Ripening. **The Plant Cell**, v. 26, n. 2, p. 585, 2014.

NOZUE, K. et al. Shade Avoidance Components and Pathways in Adult Plants Revealed by Phenotypic Profiling. **PLOS Genetics**, v. 11, n. 4, p. 1–26, 1 abr. 2015.

OH, E. et al. PIL5, a Phytochrome-Interacting Basic Helix-Loop-Helix Protein, Is a Key Negative Regulator of Seed Germination in Arabidopsis thaliana. **The**

Plant Cell, v. 16, n. 11, p. 3045, 2004.

OH, E. et al. Genome-Wide Analysis of Genes Targeted by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3-LIKE5 during Seed Germination in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 21, n. 2, p. 403–419, 2009.

OKA, Y.; KONG, S. G.; MATSUSHITA, T. A Non-Covalently Attached Chromophore can Mediate Phytochrome B Signaling in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 52, n. 12, p. 2088–2102, 1 dez. 2011.

PAIK, I.; HUQ, E. Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks. **Seminars in cell & developmental biology**, v. 92, p. 114–121, 1 ago. 2019.

PARKS, B. M.; FOLTA, K. M.; SPALDING, E. P. Photocontrol of stem growth. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, n. 5, p. 436–440, 1 out. 2001.

PARKS, B. M.; SPALDING, E. P. Sequential and coordinated action of phytochromes A and B during Arabidopsis stem growth revealed by kinetic analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 24, p. 14142–14146, 23 nov. 1999.

PFEIFFER, A. et al. Interaction with plant transcription factors can mediate nuclear import of phytochrome B. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 15, p. 5892–5897, 10 abr. 2012.

PHAM, V. N.; KATHARE, P. K.; HUQ, E. Phytochromes and Phytochrome Interacting Factors. **Plant Physiology**, v. 176, n. 2, p. 1025–1038, 6 fev. 2018.

PIERIK, R.; BALLARÉ, C. L. Control of Plant Growth and Defense by Photoreceptors: From Mechanisms to Opportunities in Agriculture. **Molecular Plant**, v. 14, n. 1, p. 61–76, 4 jan. 2021.

PIERIK, R.; DE WIT, M. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 11, p. 2815–2824, 1 jun. 2014.

PINO, L. E. et al. The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato “Micro-Tom” model system. **Plant Methods**, v. 6, n. 1, p. 23, 7 out. 2010.

PIOTTO, F. A. et al. Base genética do hábito de crescimento e florescimento em tomateiro e sua importância na agricultura. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 1941–1946, nov. 2012.

PODOLEC, R.; ULM, R. Photoreceptor-mediated regulation of the COP1/SPA E3 ubiquitin ligase. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 45, p. 18–25, 1 out. 2018.

PROCKO, C. et al. The epidermis coordinates auxin-induced stem growth in response to shade. **Genes and Development**, v. 30, n. 13, p. 1529–1541, 1 jul. 2016.

QIU, K. et al. EIN3 and ORE1 Accelerate Degreening during Ethylene-Mediated Leaf Senescence by Directly Activating Chlorophyll Catabolic Genes in Arabidopsis. **PLoS Genetics**, v. 11, n. 7, 1 jul. 2015.

QUADRANA, L. et al. Coupling Virus-Induced Gene Silencing to Exogenous Green Fluorescence Protein Expression Provides a Highly Efficient System for Functional Genomics in Arabidopsis and across All Stages of Tomato Fruit Development. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 1278, 2011.

QUINET, M. et al. Tomato Fruit Development and Metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1554, 29 nov. 2019.

QUINT, M. et al. Molecular and genetic control of plant thermomorphogenesis. **Nature Plants**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 6 jan. 2016.

REDDY, S. K.; FINLAYSON, S. A. Phytochrome B Promotes Branching in Arabidopsis by Suppressing Auxin Signaling. **Plant Physiology**, v. 164, n. 3, p. 1542, 2014.

ROCKWELL, N. C.; SU, Y. S.; LAGARIAS, J. C. PHYTOCHROME STRUCTURE AND SIGNALING MECHANISMS. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 837–858, 2 maio 2006.

ROSADO, D. et al. Phytochrome Interacting Factors (PIFs) in *Solanum lycopersicum*: Diversity, Evolutionary History and Expression Profiling during Different Developmental Processes. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165929, 1 nov. 2016.

ROSADO, D. et al. Downregulation of PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4 Influences Plant Development and Fruit Production. **Plant Physiology**, v. 181, n. 3, p. 1360, 1 nov. 2019.

SAKURABA, Y. et al. Phytochrome-interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in Arabidopsis. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 1–13, 14 ago. 2014.

SAKURABA, Y. Light-Mediated Regulation of Leaf Senescence. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, 1 abr. 2021.

SAMACH, A.; LOTAN, H. The transition to flowering in tomato. **Plant Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 71–82, 2007.

SASIDHARAN, R. et al. Light quality-mediated petiole elongation in Arabidopsis during shade avoidance involves cell wall modification by xyloglucan endotransglucosylase/hydrolases. **Plant physiology**, v. 154, n. 2, p. 978–990, 2010.

SCHMITZ, G.; THERES, K. Genetic control of branching in Arabidopsis and tomato. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, n. 1, p. 51–55, 1 fev. 1999.

SETHE BURGIE, E. et al. Photosensing and Thermosensing by Phytochrome B Require Both Proximal and Distal Allosteric Features within the Dimeric Photoreceptor. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 1 dez. 2017.

SHARROCK, R. A.; CLACK, T. Patterns of Expression and Normalized Levels of the Five Arabidopsis Phytochromes. **Plant Physiology**, v. 130, n. 1, p. 442–456, 2002.

SHI, H. et al. Genome-wide regulation of light-controlled seedling morphogenesis by three families of transcription factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 25, p. 6482–6487, 19 jun. 2018.

SHIM, J. S.; KUBOTA, A.; IMAIZUMI, T. Circadian Clock and Photoperiodic Flowering in Arabidopsis: CONSTANS Is a Hub for Signal Integration. **Plant Physiology**, v. 173, n. 1, p. 5–15, 1 jan. 2017.

SHIN, A. Y. et al. Evidence that phytochrome functions as a protein kinase in plant light signalling. **Nature Communications**, v. 7, p. 1–13, 13 maio 2016.

SHIN, J. et al. Phytochromes promote seedling light responses by inhibiting four negatively-acting phytochrome-interacting factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 18, p. 7660–7665, 5 maio 2009.

SHINOMURA, T. et al. Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in Arabidopsis thaliana. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 15, p. 8129–8133, 7 jul. 1996.

SILVA, W. B. et al. SELF-PRUNING Acts Synergistically with DIAGEOTROPICA to Guide Auxin Responses and Proper Growth Form. **Plant Physiology**, v. 176, n. 4, p. 2904–2916, 2 abr. 2018.

SIMPSON, G. G.; DEAN, C. Arabidopsis, the Rosetta stone of flowering time? **Science**, v. 296, n. 5566, p. 285–289, 12 abr. 2002.

SONG, C. et al. 3D structures of plant phytochrome a as Pr and Pfr from solid-state NMR: Implications for molecular function. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 24 abr. 2018.

SONG, Y. et al. Age-Triggered and Dark-Induced Leaf Senescence Require the bHLH Transcription Factors PIF3, 4, and 5. **Molecular Plant**, v. 7, n. 12, p. 1776–1787, 21 jul. 2014.

SPARTZ, A. K. et al. SAUR Inhibition of PP2C-D Phosphatases Activates Plasma Membrane H⁺-ATPases to Promote Cell Expansion in Arabidopsis. **The**

Plant Cell, v. 26, n. 5, p. 2129–2142, 2014.

STEPHENSON, P. G.; FANKHAUSER, C.; TERRY, M. J. PIF3 is a repressor of chloroplast development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 18, p. 7654–7659, 5 maio 2009.

SU, Y. S.; LAGARIAS, J. C. Light-Independent Phytochrome Signaling Mediated by Dominant GAF Domain Tyrosine Mutants of Arabidopsis Phytochromes in Transgenic Plants. **The Plant Cell**, v. 19, n. 7, p. 2124–2139, 27 ago. 2007.

SULLIVAN, J. A.; DENG, X. W. From seed to seed: the role of photoreceptors in Arabidopsis development. **Developmental Biology**, v. 260, n. 2, p. 289–297, 15 ago. 2003.

TAKEDA, T. et al. The OsTB1 gene negatively regulates lateral branching in rice. **The Plant Journal**, v. 33, n. 3, p. 513–520, 1 fev. 2003.

TAO, Y. et al. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. **Cell**, v. 133, n. 1, p. 164–176, 4 abr. 2008.

TEPPERMAN, J. M.; HWANG, Y. S.; QUAIL, P. H. phyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly responding genes at the initiation of Arabidopsis seedling de-etiolation. **The Plant Journal**, v. 48, n. 5, p. 728–742, 1 dez. 2006.

TOMATO GENOME CONSORTIUM. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, v. 485, n. 7400, p. 635–641, 30 maio 2012.

TRIPATHI, S. et al. Regulation of Photomorphogenic Development by Plant Phytochromes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6165, 2 dez. 2019.

TUCKER, D. J. Phytochrome regulation of leaf senescence in cucumber and tomato. **Plant Science Letters**, v. 23, n. 1, p. 103–108, 1 out. 1981.

TURCK, F.; FORNARA, F.; COUPLAND, G. Regulation and Identity of Florigen: FLOWERING LOCUS T Moves Center Stage. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 573–594, 29 abr. 2008.

ULIJASZ, A. T. et al. Structural basis for the photoconversion of a phytochrome to the activated Pfr form. **Nature**, v. 463, n. 7278, p. 250–254, 1 jan. 2010.

WANG, F. F. et al. Phytochrome B Is Involved in Mediating Red Light-Induced Stomatal Opening in Arabidopsis thaliana. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 246–259, 1 jan. 2010.

WANG, M. et al. BRANCHED1: A Key Hub of Shoot Branching. **Frontiers in**

Plant Science, v. 10, 1 fev. 2019.

WANG, W. et al. The transcription factor SIHY5 regulates the ripening of tomato fruit at both the transcriptional and translational levels. **Horticulture Research**, v. 8, n. 1, p. 83, 1 dez. 2021.

WANG, Y.; LI, J. Molecular Basis of Plant Architecture. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 253–279, 29 abr. 2008.

WATERS, M. T. et al. GLK Transcription Factors Coordinate Expression of the Photosynthetic Apparatus in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 21, n. 4, p. 1109–1128, 2009.

WEIGEL, D. et al. LEAFY controls floral meristem identity in Arabidopsis. **Cell**, v. 69, n. 5, p. 843–859, 29 maio 1992.

WELLER, J. L. et al. Physiological interactions of phytochromes A, B1 and B2 in the control of development in tomato. **The Plant Journal**, v. 24, n. 3, p. 345–356, 1 nov. 2000.

WERNER, T. et al. New insights into the biology of cytokinin degradation. **Plant Biology**, v. 8, n. 3, p. 371–381, maio 2006.

WON, C. et al. Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by tryptophan aminotransferases of Arabidopsis and YUCCAs in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 45, p. 18518–18523, 8 nov. 2011.

XIAO, Y. et al. HY5: A Pivotal Regulator of Light-Dependent Development in Higher Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 17 jan. 2021.

XU, X. et al. Illuminating Progress in Phytochrome-Mediated Light Signaling Pathways. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 10, p. 641–650, 1 out. 2015.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual review of plant biology**, v. 61, p. 49–64, 6 jun. 2010.

ZHAO, Z. et al. Hormonal control of the shoot stem-cell niche. **Nature**, v. 465, n. 7301, p. 1089–1092, 1 jun. 2010.