

GILBERTO BARBANTE KERBAUY

# Fisiologia *Vegetal*

TERCEIRA EDIÇÃO



  
GUANABARA  
KOOGAN

## ATENÇÃO

Devido à pandemia em que o país se encontra e seguindo Diretrizes adotadas pela Universidade de São Paulo, as Bibliotecas da USP estão fechadas por tempo indeterminado, não sendo possível a utilização dos exemplares físicos disponíveis no acervo da Biblioteca do IB/USP.

Para atender demandas específicas e não prejudicar as atividades em sala de aula, este material foi digitalizado com autorização do autor da obra, para uso exclusivamente na disciplina “Forma e Função do Desenvolvimento Vegetal”.

De acordo com a lei de Direitos Autorais (Lei 9.610, de 1998), não é permitida a reprodução deste material.

Serviço de Biblioteca do IB/USP

Julho, 2020



# Fotomorfogênese em Plantas

Nidia Majerowicz • Lázaro E. P. Peres • Rogério Falleiros Carvalho

## Introdução

A percepção de mudanças na radiação ambiental tem enorme relevância para a maioria dos organismos procariotos e eucariotos superiores. Entretanto, essa capacidade de perceber e responder à luz é especialmente importante para organismos sésseis como as plantas. Para elas, a luz é um recurso ambiental crítico que provê energia para a biossíntese de todas as moléculas orgânicas. A limitação de luz no interior de uma comunidade vegetal pode acarretar redução do crescimento e da reprodução. As pressões de seleção impostas pela necessidade das plantas de se adaptarem com sucesso à luz ambiental conduziram à evolução de mecanismos de fotopercepção notavelmente sofisticados (Smith e Whitlam, 1990; Nagy e Schäfer, 2002).

A luz, como onda eletromagnética, tem a sua energia ( $E$ ) expressa pela fórmula  $E = hc/\lambda$ , inversamente proporcional ao comprimento de onda ( $\lambda$ ) e diretamente à velocidade da luz ( $c = 3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$ ), em que  $h$  é a constante de Planck ( $6,63 \times 10^{-34} \text{ J s}$ ); geralmente, a energia é expressa em nanômetros (nm).

Dessa forma, se considerada a luz do ambiente, os seres vivos são aptos a percebê-la tanto quantitativa quanto qualitativamente, desencadeando, em consequência, uma série de processos biológicos, protagonizados pela faixa do espectro luminoso compreendido entre os comprimentos de onda correspondentes à luz azul, mais energética, e ao vermelho, menos energética. Entretanto, comprimentos de onda muito curtos, como do UV, ou muito longos, como do vermelho-distante, desencadeiam importantes respostas biológicas. Como exemplo, na Figura 15.1 são mostrados alguns dos eventos controlados pela qualidade luminosa, a qual é percebida por vários fotorreceptores das plantas.

Dessa forma, as plantas podem perceber pequenas variações na quantidade de luz (gradientes luminosos), bem como diferenças sutis na composição espectral, e assim detectar se estão sombreadas, sob luz solar intensa ou, então, o período do dia, se manhã ou tarde. A luz é, portanto, um  *sinal ambiental*, cuja percepção desencadeia mudanças no metabolismo e no desenvolvimento das plantas. A Figura 15.2 traça um quadro das ações biológicas da luz em plantas, sem incluir seus efeitos sobre a fotossíntese. Praticamente todas as características físicas da radiação ambiental podem modificar o comportamento

(movimento de organelas e órgãos) e o desenvolvimento das plantas, destacando-se, por exemplo:

1. Direção (ver Capítulos 9 e 16).
2. Intensidade (quantidade de fótons por unidade de área ou  $\mu\text{mol fótons m}^{-2}$ ).
3. Qualidade (comprimentos de onda constitutivos da radiação).
4. Periodicidade (fotoperíodo).

Isso significa que os conteúdos informativos presentes na luz podem ser utilizados pelas plantas de muitas maneiras, levando a mudanças de crescimento, forma e reprodução. A informação detectada é utilizada para otimizar o crescimento em virtude da luz ambiente, permitindo que a estrutura fotossintética funcione eficientemente ao longo do desenvolvimento (Chory, 1997). A luz exerce efeitos dramáticos na morfogênese de plântulas na transição germinativa entre o desenvolvimento heterotrófico (vida sob o solo) e o desenvolvimento autotrófico (Figura 15.3), assim como na germinação de certos tipos de sementes, no florescimento e na formação de órgãos de reserva (Chory, 1997; Kendrick e Kronenberg, 1994).

A percepção do sinal luminoso requer que a luz seja absorvida e se torne fotoquimicamente ativa, o que é efetuado pelos *fotorreceptores* ou pigmentos especializados. A absorção seletiva dos diferentes comprimentos de onda faz com que o fotorreceptor “leia” o conteúdo informativo contido na luz e o transforme em uma ação primária no interior das células. Ao tornar-se fotoquimicamente ativo, o fotorreceptor desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos, a denominada via de transdução (transmissão) de sinais que, em última instância, leva às respostas metabólicas e de desenvolvimento.

A maior parte das respostas fotomorfogênicas das plantas vasculares parece ser controlada por meio de quatro classes de fotorreceptores (Nagy e Schäfer, 2002):

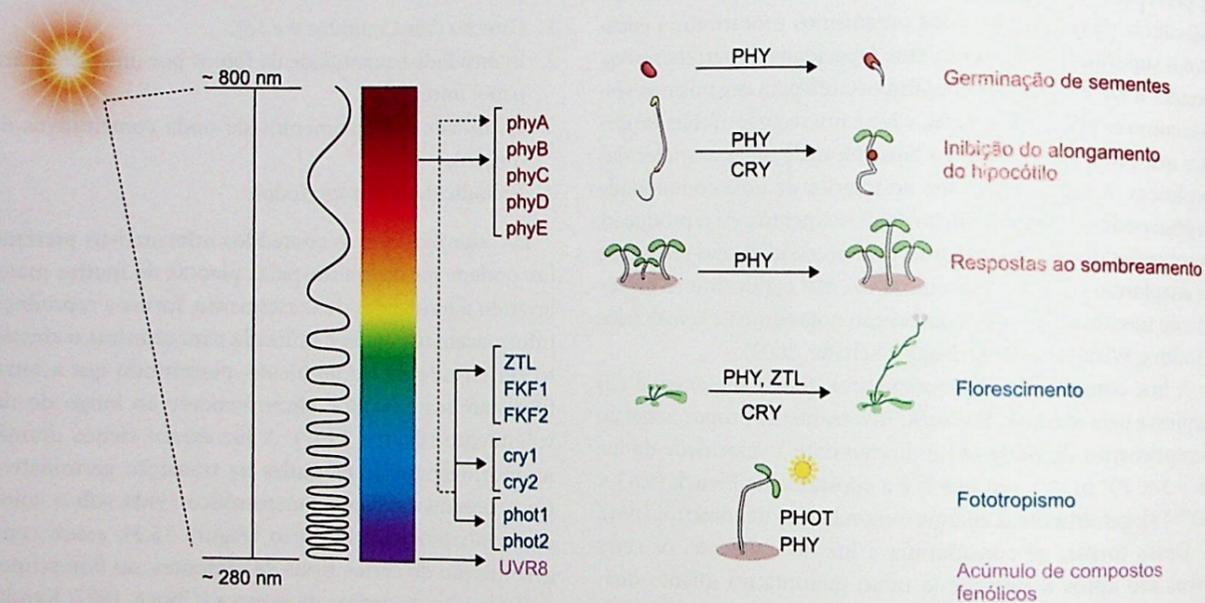
1. Fitocromos: absorvem principalmente o comprimento de luz vermelho (650 a 680 nm) e de vermelho-extremo (710 a 740 nm), podendo, inclusive, absorver a luz azul (425 a 490 nm).

2. Criptocromos: têm picos máximos de absorção no azul (425 a 490 nm) e na banda do UVA – ultravioleta A (cerca de 320 a 400 nm).
3. *UV resistance locus 8* (UVR8): fotorreceptores de luz na banda do UVB (280 a 315 nm).
4. Fototropinas: absorvem principalmente luz azul (400 a 500 nm) – são associadas ao fototropismo.

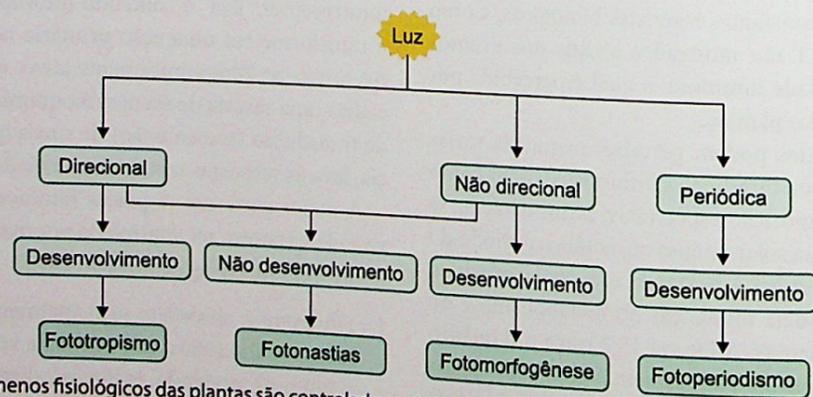
Os fitocromos e os criptocromos são os principais responsáveis pela maior parte dos processos fotomorfogênicos nas plantas. Na Figura 15.3, é mostrada a multiplicidade de respostas controladas pela luz durante o estabelecimento das plântulas. O alongamento do hipocótilo e do coleótilo é rápido no escuro e praticamente inibido pela luz. Também na luz, há abertura do gancho apical, expansão dos cotilédones e

das folhas primárias, desenvolvimento radicular, atividade da gema apical e dos meristemas intercalares (p. ex., milho), diferenciação dos cloroplastos, síntese de proteínas e pigmentos fotossintéticos, biossíntese de compostos do metabolismo secundário como antocianinas e moléculas precursoras da síntese de ligninas, necessárias à formação dos vasos do xilema e das fibras, ambos indispensáveis à sustentação.

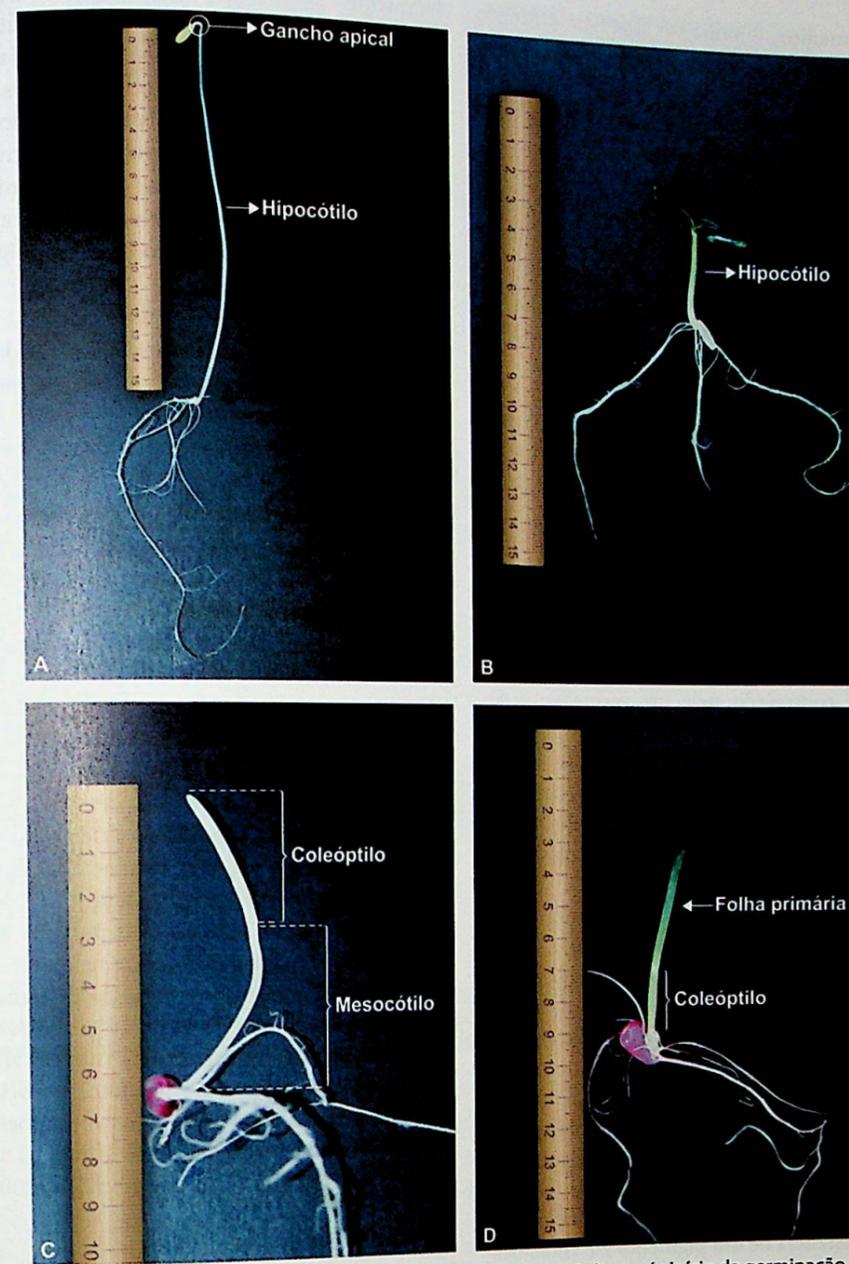
O processo pelo qual o escuro controla o crescimento e o desenvolvimento das plantas é denominado escotomorfogênese, durante o qual as plântulas se tornam estioladas, apresentando, em geral, caules muito alongados e fracos, ausência de clorofila, folhas e cotilédones não expandidos, e manutenção do gancho apical fechado nas dicotiledôneas (Figura 15.3). Também, são designadas estioladas as plantas



**Figura 15.1** Controle da luz sobre as respostas de desenvolvimento das plantas. Os fotorreceptores permitem que as plantas percebam a qualidade da luz desde os comprimentos de onda mais curtos até os mais longos do espectro luminoso. Para tanto, dispõem de um aparato de diferentes tipos de receptores não clorofilianos, como os fitocromos (Phy, mais conhecidos), os criptocromos (cry), as fototropinas (phot) e os até agora chamados de zeitlupes (ZLT), ainda pouco conhecidos e representativos de uma família de moléculas que podem perceber a luz ultravioleta – UVB (UVR8). Adaptada de Fankhauser (s.d.).



**Figura 15.2** Vários fenômenos fisiológicos das plantas são controlados pela luz. Muitos deles dependem das propriedades físicas da luz incidente, como a direção, a qualidade espectral e a periodicidade.



**Figura 15.3** Plântulas de pepino (*Cucumis sativus*; A e B) e de milho (*Zea mays*; C e D) 8 dias após início da germinação (embebição). As plântulas à esquerda (A e C) foram mantidas no escuro, e as da direita (B e D) cresceram em presença de luz. De modo geral, plântulas crescidas no escuro, denominadas estioladas, são esbranquiçadas (sem clorofilas), alongadas (crescimento longitudinal acelerado) e frágeis (não formam fibras), apresentando sistema radicular reduzido em comparação com as plântulas mantidas sob iluminação. Diferentemente de plântulas de milho (monocotiledôneas) crescidas no claro, quando no escuro elas apresentam mesocótilo e coleótilo alongados, mantendo as folhas primárias enroladas no interior do coleótilo. Plântulas de pepino (dicotiledônea) mantidas no escuro apresentam hipocótilo alongado, gancho plumular fechado e folhas primárias não expandidas em contraste com as plântulas crescidas em ambiente iluminado.

crescidas em ambientes com limitação de luz, as quais originam caules mais longos e menos ramificados que quando crescidas sob luz solar direta.

### Fitocromo e controle do desenvolvimento

#### Descoberta do fitocromo

Ainda que os efeitos benéficos da luz sobre o crescimento das plantas fossem reconhecidos desde o século 18, foi, no entanto, na década de 1930 que esse assunto passou a receber

a devida atenção dos cientistas, mais notadamente de Flint e McAlister. Ambos foram os primeiros a demonstrar que sementes de alface (*Lactuca sativa* cv *Grand Rapids*) germinavam bem mais quando irradiadas com luz vermelha (V), que quando na presença de luz vermelho-extrema (VE), sob a qual a germinação era inibida.

A compreensão do papel da luz no desenvolvimento das plantas progrediu, rapidamente, a partir da década de 1950 com os estudos pioneiros conduzidos pelo botânico H.A. Borwick, o físico-químico S.B. Hendricks *et al.*, sobre os efeitos

de diferentes comprimentos de onda do espectro luminoso sobre fenômenos fisiológicos – *espectro de ação* –, como a germinação de sementes fotoblásticas positivas de alfaca, o alongamento caulinar de ervilha e o controle fotoperiódico do florescimento. Por meio do espectro de ação, pode-se aquilatar como cada comprimento de onda afeta, quantitativamente, esses eventos fotobiológicos. Esse estudo foi possível graças ao emprego de um espectrógrafo, um equipamento que projetava em uma grande câmara escura um espectro luminoso de 2 m, compreendendo a banda correspondente à luz violeta (comprimentos de onda curtos) até a luz vermelha-extrema (comprimentos de onda longos; Labouriau, 1983).

Graças à precisão oferecida por essa condição experimental, foi possível observar que o espectro de ação era o mesmo para os três eventos fisiológicos estudados, com picos no vermelho (V) – comprimento de onda de 660 nm – e no vermelho-extremo, também chamado de vermelho-distante (VE) – comprimento de onda de 730 nm. Ver a seguir. Os resultados inéditos então obtidos levaram Borthwick e Hendricks a propor que esses três importantes e diferentes fenômenos fisiológicos seriam controlados por um único pigmento fotorreceptor.

Não apenas isso. Esses autores constatariam ainda outro evento extraordinário controlado pela luz vermelha: a *fotorreversibilidade*, ou seja, os efeitos desencadeados pela luz vermelha podiam ser revertidos pela irradiação com vermelho-extremo e, vice-versa, prevalecendo, em qualquer uma das respostas estudadas, aquela desencadeada pelo último comprimento de onda aplicado. Tal fenômeno jamais havia sido descrito na biologia.

Os dados apresentados na Tabela 15.1 e na Figura 15.4 ilustram o mecanismo de controle da fotorreversibilidade. Na Figura 15.4, as sementes de alfaca foram embebidas no escuro durante 3 h antes de serem submetidas a uma exposição de 1 min à irradiação com luz vermelha e 4 min com luz vermelho-extrema, ou alternâncias sucessivas e imediatas com V e VE; depois disso, as sementes foram reconduzidas ao escuro. Após 48 h, o número de sementes germinadas de cada grupo foi contado. Conforme se observa na Figura 15.4, a germinação é promovida pela luz V e inibida pela luz VE.

O conjunto desses resultados conduziu Borthwick e Hendricks a proporem a existência de um pigmento até então desconhecido, ao qual denominaram *fitocromo*. Esse pigmento, até então hipotético, deveria existir e funcionar sob duas formas: uma com pico de absorção no vermelho (660 nm), quando o fitocromo forma V (Fv), e outra com pico de absorção no

Tabela 15.1 Fotorreversibilidade V-VE da germinação de sementes de alfaca.

Irradiação	% Germinação (20°C)
V	70
V, VE	6
V, VE, V	74
V, VE, V, VE	6
V, VE, V, VE, V	76
V, VE, V, VE, V, VE	72

Fonte: Borthwick et al. (1954).

vermelho-extremo (730 nm), quando o fitocromo forma VE (Fve). Em língua inglesa, a forma Fv do fitocromo é abreviada para Pr (*red phytochrome*), e a forma Fve para Pfr (*far-red phytochrome*). A partir dos seus resultados experimentais, esses autores propuseram também que o fitocromo deveria ser sintetizado no escuro na forma Fv. A forma *fisiologicamente ativa* do fitocromo seria a forma Fve, quimicamente muito instável, a qual, no escuro, reverteria para a forma Fv por reações bioquímicas independentes de luz (Figura 15.5).

**Fitocromo | Uma família gênica**

Até recentemente, o fitocromo era considerado um fotorreceptor único, com propriedades relativamente parecidas em todas as plantas e sob todas as condições. Contudo, sabe-se hoje que as plantas vasculares, assim como as plantas inferiores, incluindo as algas, apresentam vários genes para esse tipo de fotorreceptor. Estudos moleculares têm demonstrado que a sua parte polipeptídica (proteica) é codificada por uma família de genes. Em *Arabidopsis thaliana*, foram identificados cinco genes, designados por *PhyA*, *PhyB*, *PhyC*, *PhyD* e *PhyE*. Pesquisas com mutantes fotorreversíveis e plantas transgênicas têm indicado que os múltiplos tipos de fitocromos podem apresentar funções fotossensoriais e fisiológicas distintas. De acordo com esses estudos, o fitocromo A (*phyA*), de modo característico, acumula no escuro e desaparece, rapidamente, no claro; além disso, parece ter como papel primário a fotorreversibilidade em plântulas novas e ainda estioladas, que crescem em comunidades vegetais sombreadas, onde predomina o vermelho-extremo. O fitocromo *phyA* é tipicamente instável na presença de luz, podendo sua proteína ser degradada, rapidamente, por um pulso de luz saturante (Figura 15.6). Os níveis de *phy B-E*, por sua vez, são extremamente reduzidos tanto no claro quanto no escuro, a ponto de dificultar os estudos espectroscópicos e imunoquímicos *in vivo*. O fitocromo B (*phyB*) parece exercer um papel fotossensorial na iniciação do desestiolamento em condição luminosa, bem como na indução de respostas de escape (estiolamento) ao sombreamento em plantas (Quail, 1994; Nagy e Schäfer, 2002).

**Propriedades físico-químicas**

**A molécula do fitocromo**

Os fitocromos são proteínas pigmentadas e solúveis, com aproximadamente 125 kD (kilodáltons). Em soluções concentradas desse fotorreceptor, a forma Fv tem uma coloração azulada, enquanto a forma Fve se apresenta esverdeada. As moléculas de fitocromo são dímeros proteicos (Figura 15.7). Cada subunidade contém um *cromóforo*, que se liga covalentemente à proteína *Phy* (*apoproteína*). O cromóforo é um tetrapirrol de cadeia aberta denominado *fitocromobilina* (Figura 15.8). Juntos, a apoproteína e seu cromóforo formam a *holoproteína* (Chory, 1997). Em *Arabidopsis*, tanto as apoproteínas *Phy A-E* quanto o respectivo cromóforo são codificados por genes nucleares, sendo este sintetizado em uma via metabólica dos cloroplastos (Figura 15.9).

As propriedades únicas das moléculas de fitocromo resultam da interação complexa entre o cromóforo e a apoproteína. A fotoconversão entre as formas Fv e Fve está associada

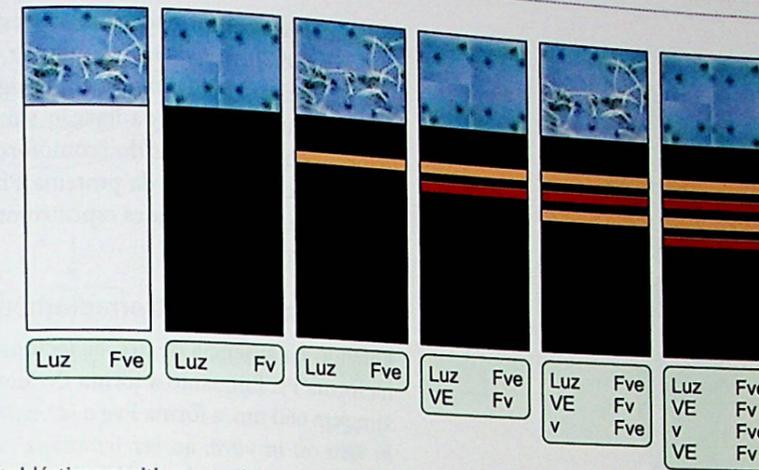


Figura 15.4 Sementes fotoblásticas positivas germinam após receberem um pulso (1 min) de luz de comprimento de onda vermelho (V). Esse efeito pode ser revertido se, em seguida, as mesmas sementes forem irradiadas alguns minutos com luz de comprimento de onda vermelho-extremo (VE). Quando tratamentos alternados de luz V e VE são aplicados sobre as sementes, a resposta observada será determinada pelo último comprimento de onda irradiado sobre as sementes. As estruturas brancas observadas nas fotografias são raízes formadas em decorrência do processo de germinação em curso após irradiação com luz V.

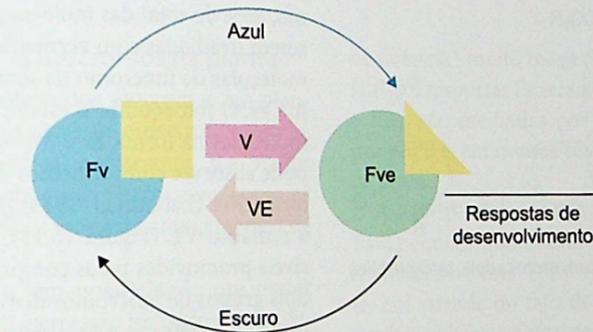


Figura 15.5 As duas formas fotorreversíveis do fitocromo, Fv e Fve, são correlacionadas com a indução de respostas metabólicas e de desenvolvimento. A fotoconversão da forma do fitocromo Fv a Fve é induzida por comprimento de onda no vermelho (V) e por luz azul, e a reversão de Fve a Fv é induzida por comprimento de onda no vermelho-extremo (VE) e também pelo escuro.

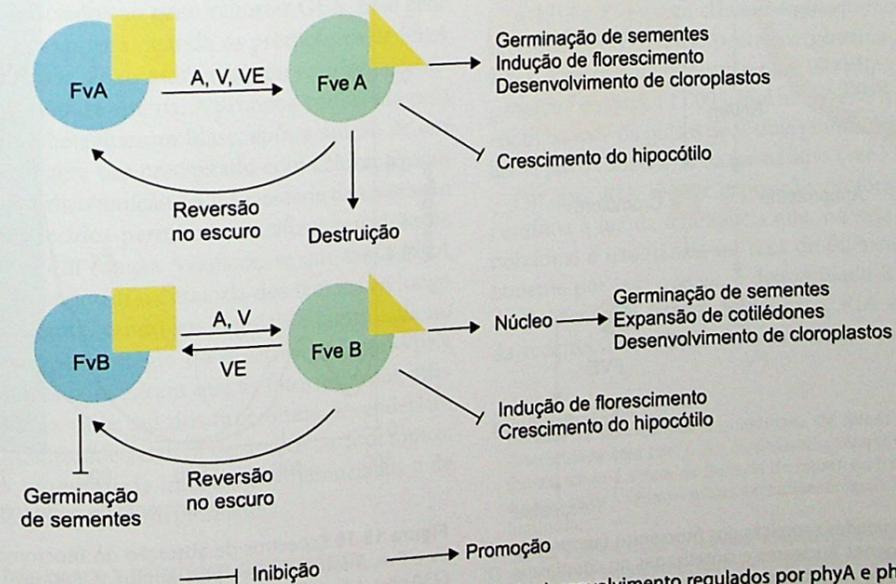
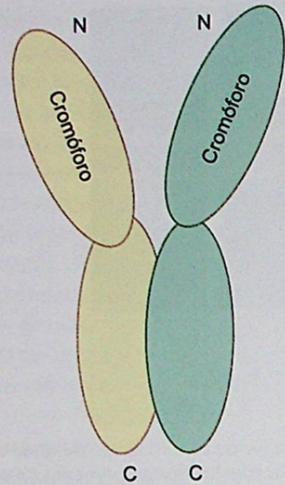
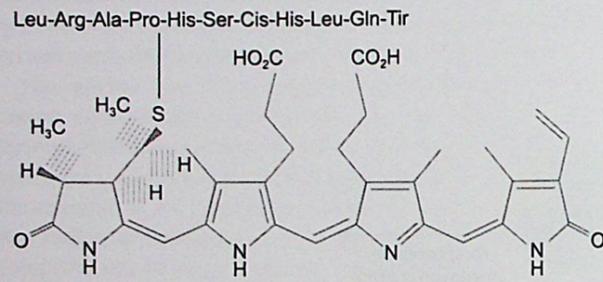


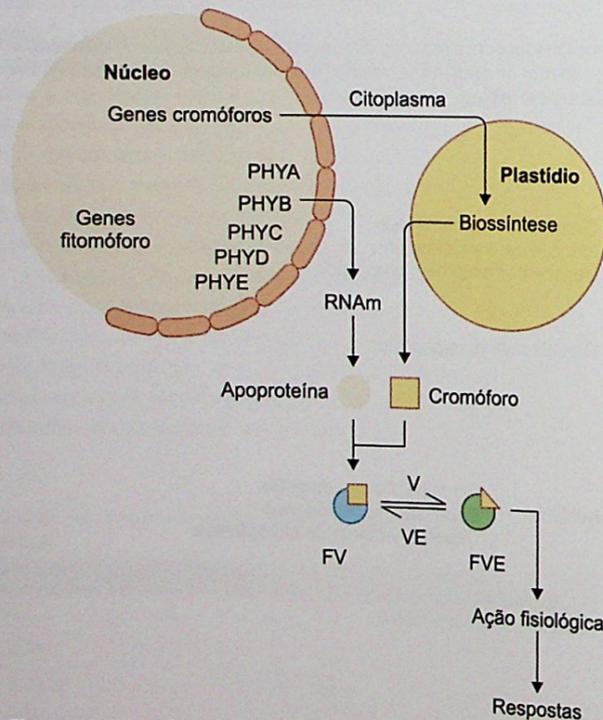
Figura 15.6 Resumo esquemático da fotoconversão Fv-Fve e dos processos de desenvolvimento regulados por *phyA* e *phyB*. As setas indicam promoção, e a terminação em T indica inibição dos eventos fisiológicos mencionados. Os comprimentos de onda do vermelho, vermelho-extremo e azul são, V, VE e A, respectivamente. Adaptada de Chory (1997).



**Figura 15.7** Estrutura do fitocromo formado por um dímero proteico. Cada subunidade proteica se liga a um cromóforo.



**Figura 15.8** O cromóforo do fitocromo é uma cadeia tetrapirrólica aberta.

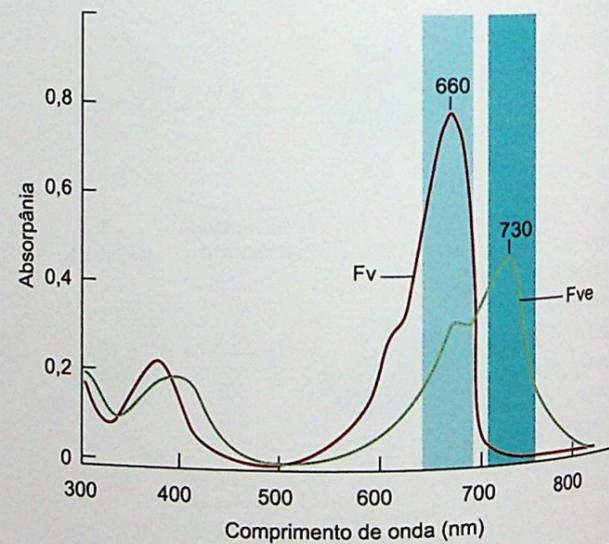


**Figura 15.9** As subunidades proteicas dos fitocromos (apoproteínas) são codificadas por genes nucleares e sintetizadas no citoplasma. O cromóforo é sintetizado no interior dos cloroplastos e transportado para o citoplasma. A ligação entre as apoproteínas e o cromóforo forma moléculas ativas de fitocromos (holoproteínas).

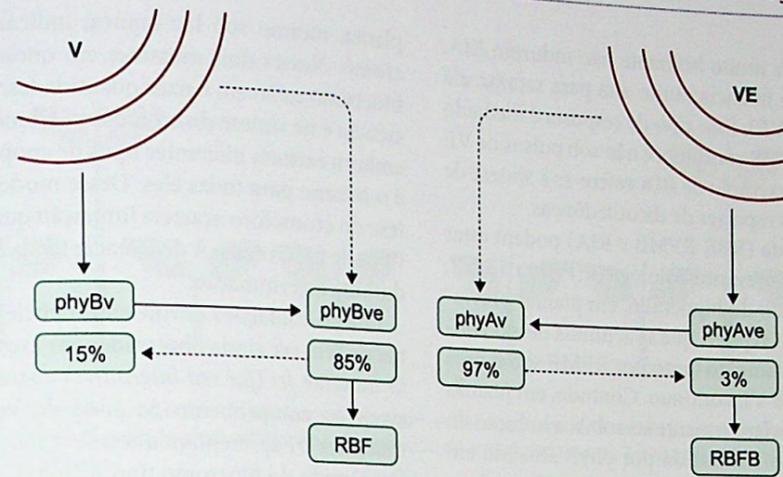
a mudanças conformacionais na estrutura do cromóforo (Chory, 1997). Após absorção de luz, o cromóforo Fv passa por isomerização *cis-trans* na dupla-ligação entre os carbonos 15 e 16 e uma rotação da ligação simples C14-C15. As mudanças conformacionais do cromóforo, promovidas pela luz, alteram a conformação da proteína Phy e, ao mesmo tempo, modificam as propriedades espectrofotométricas da molécula do fitocromo.

**Propriedades espectralradiométricas**

Quando na ausência de luz, os tecidos sintetizam fitocromos na forma Fv. Enquanto a forma Fv tem pico de absorção máxima em 660 nm, a forma Fve o faz em 730 nm (Figura 15.10). *In vivo* ou *in vitro*, ao ser irradiada com luz vermelha (660 nm), a maior parte das moléculas do fitocromo é convertida em forma Fve (ver Figuras 15.5 e 15.10). No entanto, como as moléculas de Fve são capazes também de absorver, ainda que com menor eficiência, a luz vermelha, parte delas retorna para a forma Fv (Figura 15.11). Por esse motivo, em presença de luz vermelha saturante, a forma Fve compreende, no máximo, 85% do total das moléculas de fitocromo. Contudo, após serem irradiadas com vermelho-extremo saturante (730 nm), moléculas de fitocromo na forma Fve são convertidas na forma Fv. O fotoequilíbrio estabelecido, entretanto, é de 97% de moléculas na forma Fv e 3% na Fve. Isso porque Fv também pode absorver comprimentos de onda VE e ser convertida na forma Fve (Labouriau, 1983). Nota-se que Fv absorve pouco a radiação VE (Figura 15.11). Em síntese, as reações reversíveis promovidas pelos comprimentos de onda V/VE geram dois grupos de fitocromos distintos em suas propriedades espectrofotométricas e fisiológicas: um grupo é sintetizado no escuro na forma Fv, enquanto o outro (Fve) depende das características da radiação ambiental.



**Figura 15.10** Espectros de absorção do fitocromo phyA nas formas Fv e Fve. A forma Fv tem pico em luz V (660 nm) e a Fve em luz VE (730 nm). A forma Fv também absorve um pouco na faixa do VE, e Fve absorve significativamente na faixa do V. Note que, além da faixa do vermelho, as formas de fitocromo têm picos de absorção na faixa do azul (320 a 400 nm) e ultravioleta (280 nm).



**Figura 15.11** Interação entre fluência e comprimento de onda da fonte luminosa nas respostas ao fitocromo. Em plantas crescidas sob luz – a irradiação saturante com luz V –, a forma Fv do fitocromo tipo B (phyBv) absorverá luz V e se converterá na forma ativa (phyBve). Contudo, a forma phyBve (Fve) também absorve um pouco de luz V (ver Figura 15.9), convertendo-se novamente em phyBv. No equilíbrio fotoestacionário, sob luz V, 85% de phyB estarão na forma ativa, o que é suficiente para induzir respostas de baixa fluência (RBF). Do mesmo modo, em plântulas crescidas no escuro, após saturação com VE, phyA estará com 97% de suas moléculas na forma inativa Fv (phyAv) e somente 3% na forma ativa Fve (phyAve). Contudo, essa quantidade de phyA ativo é mais que suficiente para induzir resposta de fluência muito baixa (RFMB).

**Localização e expressão dos fitocromos na planta**

Estudos *in vivo* sobre a localização dos fitocromos em plantas transgênicas por meio de técnicas de espectrofotometria, imunocitoquímica e histoquímica registraram sua maior ocorrência nas regiões apicais de crescimento ativo, como os meristemas e as regiões subapicais (zona de alongamento) de caules e raízes.

A clonagem dos genes *Phy* tem possibilitado um maior entendimento a respeito de sua expressão individual em diferentes tecidos. Somers e Quail (1995) estudaram o padrão de expressão temporal e espacial dos genes *PhyA* e *PhyB* em plantas transgênicas de *Arabidopsis*, desde o estágio de semente até a planta em fase reprodutiva. As plantas foram transformadas com genes modificados que continham os promotores de *PhyA* e *PhyB* associados ao gene-repórter *GUS*. Esse gene artificial somente se expressa quando os promotores de *PhyA* e *PhyB* são ativados por sinais ambientais ou endógenos controladores da expressão de ambos. A proteína codificada pelo gene *GUS*, a enzima betaglucuronidase, após a adição de um substrato específico, gera um precipitado com coloração azul *in situ*. A presença, a distribuição e a intensidade da coloração azul nos diferentes tecidos permitem visualizar o padrão de expressão dos genes em estudo. Verificou-se que tanto *PhyA* quanto *PhyB* se expressavam na maioria dos tecidos ao longo de toda a vida da planta, sendo sua regulação controlada no nível transcricional, pelo estágio do desenvolvimento e pela luz. Assim, os autores concluíram que as fotorrespostas diferenciadas atribuídas a cada um dos fitocromos dependeriam da alteração da quantidade relativa de ambos os fitocromos; das propriedades bioquímicas intrínsecas diferenciadas e de vias de transdução de sinais independentes.

**Respostas ao fitocromo também dependem da quantidade de luz**

Os fitocromos podem atuar de três modos diferentes, conforme a qualidade, a intensidade e a duração da luz: respostas

de fluência\* muito baixa (RFMB), respostas de baixa fluência (RBF) e respostas de irradiância alta (RIA). Duas delas, RFMB e RIA, são mediadas por phyA. Entretanto, RBF é mediada por phyB e, em muitos casos, por outros fitocromos diferentes de phyA.

A RFMB inicia em 0,1 nmol.m<sup>-2</sup> e satura em 50 nmol.m<sup>-2</sup>. Essa pequena quantidade de luz V converte menos que 0,02% do fitocromo total (phyA) em Fve. Como visto anteriormente, em virtude do fato de a forma inativa do fitocromo (Fv) também absorver um pouco de VE e se tornar ativa, mesmo sob saturação de VE, haverá 3% de Fve. Essa pequena quantidade de fitocromo ativo é bem maior que os 0,02% necessários para induzir RFMB. É justamente por isso que, ao contrário de RBF, a RFMB não apresenta a clássica reversão por VE (ver Figura 15.11).

A RBF é a resposta clássica de fitocromo induzida por V e revertida por VE, como ocorre na germinação de sementes de alfaca. Esse tipo de resposta requer um mínimo de fluência de 1 μmol m<sup>-2</sup> e satura a 1.000 μmol m<sup>-2</sup>. Desse modo, sob exposição contínua ao V ou pulsos de V, uma grande proporção de moléculas de phyB converte-se na forma ativa (ver Figura 15.11).

Por fim, RIA requer exposição prolongada ou exposição contínua à luz de irradiância alta, ou seja, a resposta é proporcional à irradiância ou taxa de fluência de fótons. É justamente por isso que ela é denominada RIA, e não resposta de fluência alta (RFA). Nesse caso, RIA não responde à lei da reciprocidade,\*\* ou seja, exposição contínua a luz fraca

\* Entende-se por fluência a quantidade de fótons (μmol) incidindo em determinada área (m<sup>2</sup>). Ao considerar o tempo (s<sup>-1</sup>) de incidência dos fótons, ter-se-á a taxa de fluência de fótons ou irradiância, cuja unidade é μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Quanto maior a irradiância, mais “brilhante” é uma fonte luminosa.

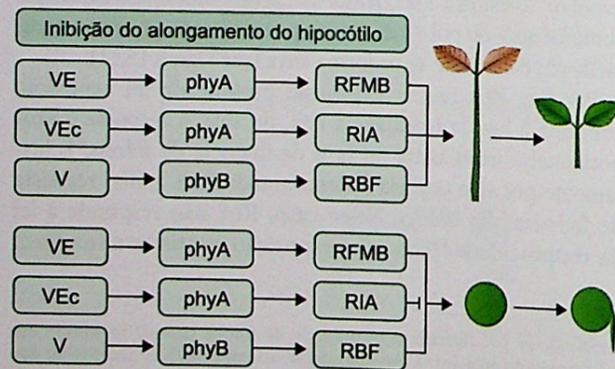
\*\*Lei da reciprocidade: a resposta fotobiológica depende do produto f × t (fluência de fótons vezes tempo de exposição). Assim, se a exposição a determinada radiação é prolongada, a fluência pode ser baixa. Porém, se o tempo de exposição é curto, a fluência deve ser proporcionalmente mais elevada. RFMB e RBF respondem a essa lei.

ou exposição rápida a luz muito brilhante não induzem RIA. Além de RIA precisar de fluência muito alta para saturar, ela não é fotorreversível (V/VE). Esse tipo de resposta é mediado por phyA e só ocorre sob VE contínuo, e não sob pulsos de VE ou mesmo V. Um típico exemplo de RIA refere-se à síntese de antocianinas em algumas espécies de dicotiledôneas.

Os três tipos de resposta (RBF, RFMB e RIA) podem estar envolvidos em um mesmo evento fisiológico (Figura 15.12). Na inibição do crescimento do hipocótilo, em plantas previamente crescidas no escuro, o phyA que se acumula nessas condições pode inibir o estiolamento tanto por RFMB sob pulsos de VE quanto por RIA sob VE contínuo. Contudo, em plantas previamente crescidas no claro e mantidas sob V, a inibição do crescimento do hipocótilo é induzida por phyB atuando em RBF. No caso da germinação de sementes, a luz VE contínua em RIA ou pulsos de VE em RBF inibirão esse processo. No primeiro caso, a inibição da germinação é mediada por phyA e, no segundo, por phyB. Contudo, sementes podem ser induzidas a germinar sob VE, desde que este atue em fluência muito baixa (RFMB), sendo essa resposta mediada por phyA. Exposição com luz V normalmente induz germinação de sementes, sendo esta a clássica RBF mediada por phyB.

### Mutações fotorfogênicas

Mutantes fotorfogênicos são muito importantes para o estudo de fotorreceptores. O efeito da mutação é a expressão defeituosa ou alterada de um gene. Mutações em genes específicos da biossíntese ou da via de transdução de sinal do fitocromo permitem analisar as diferentes funções fisiológicas desses fotorreceptores. Em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*), mutantes com alteração na síntese ou expressão do fitocromo já foram isolados. Os mutantes *yellow green-2* (*yg-2*) e *aurea* (*au*) de tomateiro não respondem à luz branca do mesmo modo que as plantas selvagens (Figura 15.13; Kendrick e Georghiou, 1991). O hipocótilo desses mutantes apresenta-se alongado e com pouco acúmulo de antocianinas. O aspecto clorótico (amarelado) das plantas dá a impressão de que estejam crescendo na ausência da luz. Essas características da



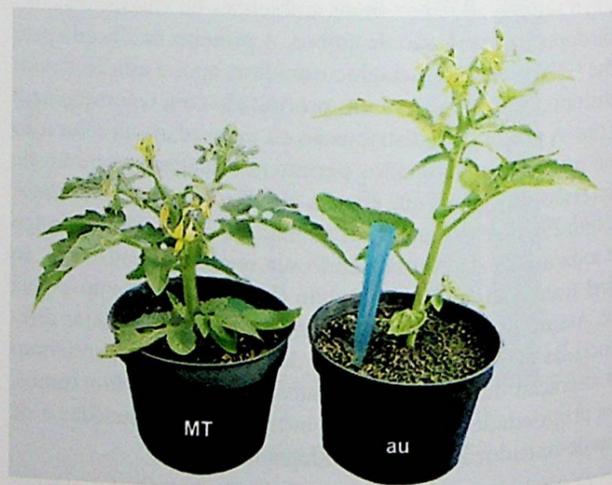
**Figura 15.12** Modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e a regulação da germinação de sementes. RFMB é mediada por phyA sob VE. RBF é mediada por phyB sob luz V. RIA é mediada por phyA sob exposição ao vermelho-extremo contínuo (VEc). Observe que a germinação de sementes é inibida por VEc em RIA ou por pulsos de VE em RBF (não mostrado aqui). Adaptada de Casal e Sanchez (1998).

planta, mesmo sob luz branca, indicam deficiência de fitocromo. Nesses dois mutantes em questão, todos os tipos de fitocromo estão em baixas quantidades, indicando que a deficiência é na síntese do cromóforo. Como visto anteriormente, embora existam diferentes tipos de apoproteínas, o cromóforo é o mesmo para todas elas. Desse modo, a deficiência na síntese do cromóforo acarreta limitação quantitativa em todos os tipos de fitocromos. A deficiência também pode ser observada durante a germinação.

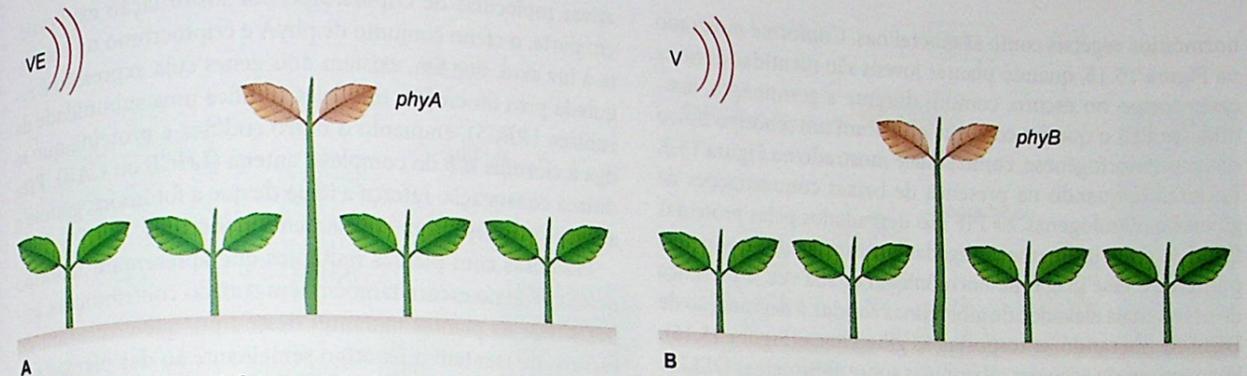
Outras mutações envolvendo deficiência na percepção da luz podem ser ainda observadas em *Lycopersicon esculentum*. O mutante *fri* (*far red insensitive*) aparece em plantas insensíveis ao comprimento de onda do vermelho-extremo. Os mutantes *fri* apresentam alterações na apoproteína de phyA. O acúmulo do fitocromo tipo A (phyA) em plantas selvagens que crescem sob VE está associado à inibição do alongamento do hipocótilo durante o estiolamento. A deficiência no acúmulo de phyA sob VE, após o período de germinação no escuro, causa um estiolamento proeminente nesses mutantes (Figura 15.14 A). Porém, quando crescido sob luz branca, o fenótipo de *fri* é quase indistinguível do tipo selvagem (van Tuinen *et al.*, 1995a).

Plantas temporariamente deficientes na percepção do comprimento de onda do vermelho, mutantes *tri* (*temporary red insensitive*), também foram encontradas em tomateiro. O fitocromo tipo B (phyB) está envolvido na percepção da luz V, causando inibição do alongamento do hipocótilo. Mutantes de tomateiro que estiolam sob esse comprimento de onda são deficientes em phyB (Figura 15.14 B). Um atraso temporário de aproximadamente 2 dias na inibição do alongamento do hipocótilo pode ser observado após a transferência de mutantes *tri* do escuro para a radiação com V (van Tuinen *et al.*, 1995b).

Os mutantes *fri* e *tri* apresentam alterações na síntese das subunidades proteicas do fitocromo, ou seja, na codificação das apoproteínas phyA e phyB1, respectivamente. Além da



**Figura 15.13** Fenótipo do mutante *aurea* (*au*; do latim *aurum*: ouro) de tomateiro. A planta da esquerda é selvagem, e a da direita é do mutante *au*. Note o aspecto estiolado das plantas e o baixo acúmulo de clorofila, prevalecendo os carotenoides (amarelo), que conferem a coloração dourada das plantas. Adaptada de Carvalho *et al.* (2011).



**Figura 15.14** Mutantes deficientes no acúmulo de phyA apresentam um estiolamento proeminente após a transferência do escuro para o VE (A). Sob V, mutantes deficientes no acúmulo de phyB estiolam por um período de aproximadamente 2 dias após a transferência do escuro para o V (B).

participação conjunta de phyA e phyB na inibição do alongamento do hipocótilo, outras respostas fotorfogênicas parecem envolver ambos os fitocromos durante o ciclo de vida da planta.

### Mecanismos de ação dos fitocromos

A presença de Fve desencadeia vias de transdução de sinais específicas para cada tipo celular, podendo promover modificações intensas no metabolismo e nas rotas de desenvolvimento. A compreensão desses mecanismos de ação tem avançado rapidamente com a utilização de técnicas moleculares e bioquímicas, assim como com o estudo de mutantes fotorfogênicos e plantas transgênicas. Essas ferramentas têm elucidado mecanismos finos de controle do crescimento e desenvolvimento vegetal pelos fitocromos, incluindo o conhecimento da interação negativa ou positiva desses fotorreceptores com outras moléculas, como hormônios. Entretanto, as primeiras evidências da ação dos fitocromos foram observadas nas membranas celulares.

### Modificação da permeabilidade das membranas

Muitas das respostas rápidas do estímulo luminoso parecem estar relacionadas com mudanças na atividade das membranas biológicas, levando a variações nos potenciais bioelétricos ou no fluxo de íons.

Um dos primeiros indícios da influência do fitocromo nas propriedades elétricas dos tecidos foi obtido por T. Tanada, em 1968, ao estudar a carga superficial de segmentos de pontas de raízes de cevada. Ele observou que, quando estas cresciam no escuro, flutuavam livremente no interior de um recipiente de vidro com paredes carregadas negativamente. Entretanto, 30 s após uma breve exposição à luz vermelha, foi suficiente para que suas pontas passassem a aderir às paredes. Contudo, um tratamento com vermelho-extremo as liberava das paredes. Mostraram com isso que o potencial elétrico transmembrana podia ser modificado pelo fitocromo. A correlação entre o fitocromo e o movimento de íons foi demonstrada no movimento noturno de fechamento de folhas e folíolos ou *nicnastia* (ver Capítulo 16), o qual é muito comum em plantas leguminosas. Plantas que apresentam esse comportamento apresentam na base das folhas (compostas) e de cada um de seus folíolos uma estrutura bulbosa chamada pulvino, este

responsável pelos movimentos de fechamento e abertura. O pulvino controla o movimento das folhas em decorrência de mudanças no volume de suas células superiores e inferiores. A entrada e a saída de água resultam da absorção e da perda de íons (ver Capítulos 1 e 2). No caso dos pulvinos, o movimento de água decorre da rápida redistribuição, via membrana plasmática, dos íons  $K^+$ ,  $Cl^-$  e malato, principalmente. Estudos têm mostrado que em certos órgãos o fitocromo controla a entrada de  $K^+$ , em resposta compensatória à saída ativa de íons  $H^+$ , a qual, por sinal é promovida pelo fitocromo (Fve). Essa despolarização instantânea da membrana promoveria a abertura de canais de  $K^+$  (Hopkins, 1995).

Estudos têm indicado que o  $Ca^{2+}$  também pode estar envolvido nos movimentos nicnásticos. Rápidas mudanças nas concentrações citoplasmáticas de  $Ca^{2+}$ , após irradiação, sugerem a participação desse íon em várias rotas de transdução de sinais.

### Fatores de interação com fitocromos (PIF)

Um dos mecanismos mais expressivos pelos quais os fitocromos modulam a fotorfogênese nas plantas dá-se por meio da interação negativa com os chamados *fatores de interação com fitocromos* ou PIF, pertencentes a uma família de fatores de transcrição (bHLH – *basic helix-loop-helix family*). A propósito, vale mencionar que os fatores de transcrição são proteínas que se ligam a genes específicos (DNA), regulando, positiva ou negativamente, a capacidade de estes realizarem transcrição gênica. Mostrou-se em *Arabidopsis* que os PIF, especialmente PIF1, PIF3, PIF4 e PIF5, são degradados na presença da luz, mas se acumulam no escuro, quando induzem a expressão de genes repressores da fotorfogênese, inibindo, assim, esse importante evento fisiológico (ver Figura 15.14).

Contudo, quando há luz, os fitocromos na forma ativa migram do citosol para o interior do núcleo, onde interagem com os PIF, fosforilando-os, além de predispor-los à degradação pelo complexo proteico proteassoma 26S. Com isso, os genes de repressão da fotorfogênese não são induzidos, e as respostas à luz podem então se manifestar. Entretanto, além dos PIF, outras moléculas fazem parte da complexa via de sinalização da repressão de respostas à luz.

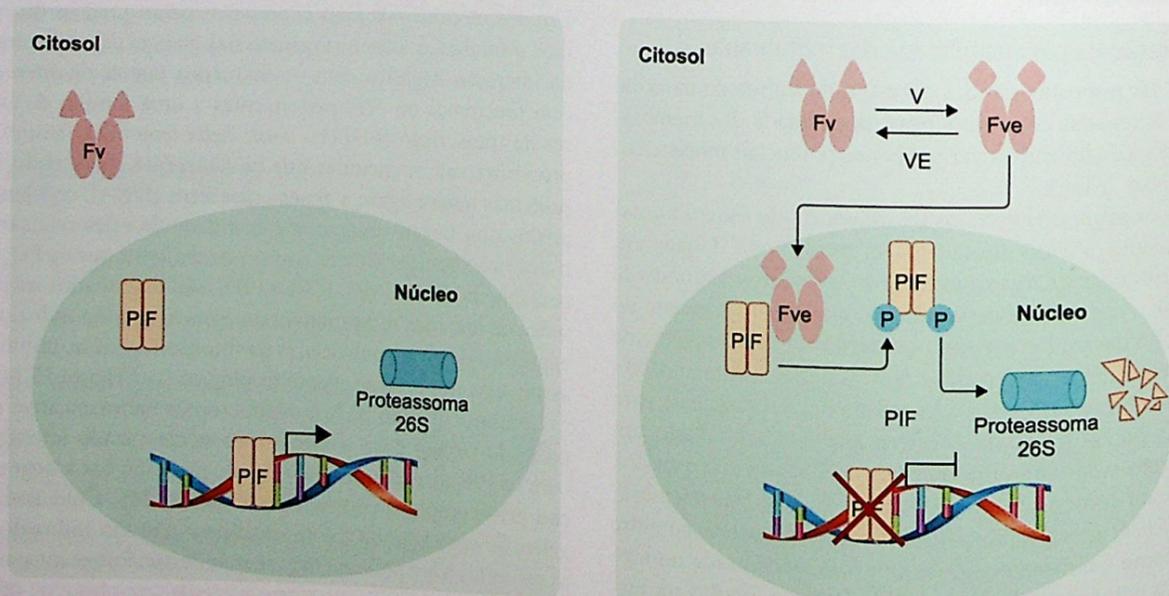
Sabe-se hoje que os mecanismos pelos quais os fitocromos interagem com os PIF podem ser também influenciados por

hormônios vegetais como as giberelinas. Conforme mostrado na Figura 15.15, quando plantas jovens são mantidas durante certo tempo no escuro, comum durante a germinação, acumula-se PIF, o que faz com que adquiram um fenótipo típico da escotomorfogênese, como aquele mostrado na Figura 15.3. Entretanto, quando na presença de baixas concentrações de giberelinas endógenas, os PIF são degradados pelas proteínas DELLA, estas intimamente ligadas à repressão dos genes responsivos a esse grupo de hormônios. Por sua vez, a presença de níveis mais elevados de giberelinas conduz à degradação de DELLA, liberando as respostas às giberelinas (Figura 15.16). Pormenores da ação das giberelinas sobre as proteínas DELLA são mostrados na Figura 11.8 (ver Capítulo 11). Segundo Oh *et al.* (2007), os mecanismos pelos quais os hormônios interagem com os PIF são ainda pouco conhecidos.

**Regulação da expressão gênica**

A função molecular primária dos fitocromos ainda é pouco conhecida. As atividades dos fitocromos como holoproteínas reguladoras da transcrição gênica ou receptores de membrana são parcialmente aceitas. Nesse sentido, já se evidenciou que, em células iluminadas com pulsos de luz V ou exposição contínua a VE, os fitocromos phyB ou phyA, respectivamente, migram do citosol para o interior do núcleo. Conhecem-se até o momento duas proteínas nucleares que interagem com a forma Fve de phyB. Acredita-se que as proteínas nucleares que se associam com phyB ativo sejam fatores de transcrição. Tal hipótese sugere que fitocromos ativados, transportados para o núcleo, exerçam um controle sobre a transcrição de genes controlados pela luz.

Já foram identificadas algumas proteínas fosforiladas pela atividade cinase do fitocromo. Uma delas é o próprio criptocromo, o qual, como já mencionado, representa um tipo distinto de fotorreceptor. A constatação de que phyA é capaz de



**Figura 15.15** Modelo simplificado da ação da luz sobre a interação entre fitocromos e PIF. No escuro, essas proteínas fazem com que os genes repressores da fotomorfogênese se mantenham reprimidos, ao passo que no claro, em virtude da presença dos fitocromos na forma ativa, elas são degradadas pelo complexo proteico proteossoma 26S. V: vermelho; VE: vermelho-extremo; Fv: forma inativa dos fitocromos; Fve: forma ativa dos fitocromos; P: fosforilação. Adaptada de Castillon *et al.* (2007).

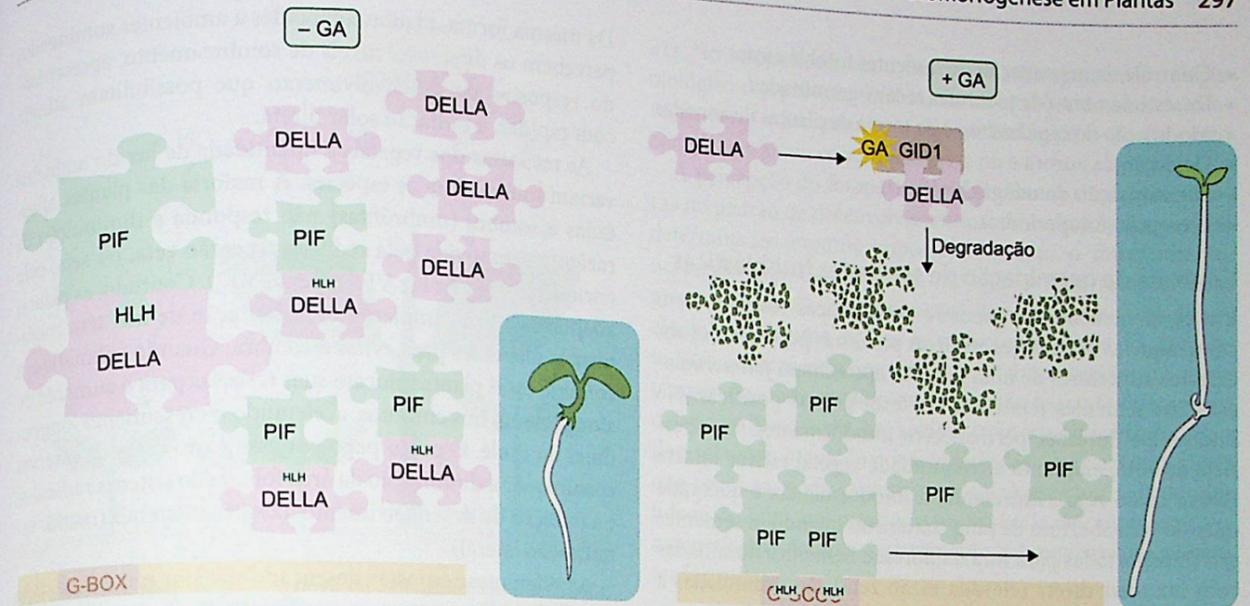
ativar moléculas de criptocromo por fosforilação explicaria, em parte, o efeito conjunto de phyA e criptocromo na resposta à luz azul. Por fim, existem dois genes cuja expressão é regulada pelo fitocromo: um deles codifica uma subunidade da rubisco (*RBCS*), enquanto o outro codifica a proteína que se liga à clorofila *a/b* do complexo antena (*LHCB* ou *CAB*). Esta última constatação reforça a ideia de que a fotomorfogênese e a fotossíntese estariam intimamente associadas.

Pesquisas com plantas mutantes que apresentam fenótipo *desetioloado* no escuro também têm trazido contribuições importantes. As plantas mutantes desse tipo, que cresceram no escuro, apresentam o fenótipo semelhante ao das plantas selvagens expostas à luz. Os mutantes de *Arabidopsis*, conhecidos como *constitutive photomorphogenic 1 (cop1)* e *deetioloated 1 (det1)*, são deficientes em uma proteína reguladora que, provavelmente, reprime os genes responsáveis pelas respostas fotomorfogênicas quando as plantas crescem no escuro. Assim, em plantas selvagens iluminadas, o fitocromo (Fve) provavelmente ativa mecanismos que removem essa proteína repressora das regiões que regulam a expressão dos genes envolvidos nas respostas fotomorfogênicas. No escuro, esses genes ficam reprimidos (Quail, 1994).

**Luz em ambientes naturais**

Em condições naturais, a luz sofre variações consideráveis na intensidade (taxa de fluência de fótons) e na qualidade (composição espectral) ao longo do dia e no interior de comunidades vegetais. Ao longo do ano, a sua duração diária (fotoperíodo) pode variar de maneira expressiva dependendo da latitude (Smith, 1982; Smith e Whitelam, 1990).

Ao amanhecer, quando o sol se encontra acima de 10° no horizonte, o espectro da radiação é relativamente constante, recebendo a denominação de *luz do dia*. No crepúsculo,



**Figura 15.16** Papel dos teores endógenos de giberelinas na atividade dos PIF. Na ausência do hormônio (- GA), o acúmulo de DELLA inativa os PIF, não permitindo, por exemplo, que esses fatores de transcrição induzam o alongamento do hipocótilo. Por outro lado, na presença de GA, esse hormônio induz a degradação de DELLA e consequentemente o acúmulo de PIF, os quais agora podem interagir com elementos G-BOX nos promotores de genes ligados à indução do alongamento hipocotilar. Adaptada de Davière *et al.* (2008).

entretanto, quando o sol declina abaixo de 10°, ocorre um aumento no trajeto da luz pela atmosfera, atenuando a radiação solar direta e incrementando, simultaneamente, a absorção e o espalhamento, levando, ao final, ao enriquecimento do espectro com luz azul e vermelho-extremo (Smith, 1982).

Ao atravessar o dossel de uma comunidade vegetal, além da atenuação em si, a luz solar sofre profundas mudanças na composição espectral. As clorofilas e os carotenoides das folhas absorvem grande parte dos fótons de comprimento de onda na faixa do vermelho e do azul (ver Capítulo 5), enquanto o vermelho-extremo atravessa com facilidade esses órgãos. Ao filtrarem seletivamente a radiação solar, as folhas modificam a proporção entre fótons de luz nas bandas do vermelho e do vermelho-extremo, de modo que, à medida que o autossombreamento aumenta em uma comunidade vegetal, a radiação ambiental vai se tornando, gradativamente, mais empobrecida de fótons correspondentes ao vermelho e ao azul e, ao mesmo tempo, mais enriquecida com fótons de luz vermelho-extrema. De especial interesse é a *razão* entre a taxa fluência de fótons de luz vermelha (V; 660 nm) e a taxa fluência de fótons de luz vermelho-extrema (VE; 730 nm) presentes no ambiente no qual crescem as plantas. A razão V/VE é representada pela letra grega zeta ( $\zeta$ ). A Tabela 15.2 mostra os valores que zeta adquire em diferentes situações ambientais (Smith, 1982).

A luz solar tem maior proporção de fótons V que de fótons VE, ao passo que, no interior de comunidades de plantas cultivadas e florestas, a radiação ambiental é enriquecida com fótons de luz VE.

**Importância ecofisiológica dos fitocromos**

Os valores de zeta da radiação ambiental são percebidos pelo fitocromo, promovendo alterações na proporção entre

Tabela 15.2 Valores de zeta ( $\zeta$ ) em ambientes abertos, sob dosséis de vegetação e taxa de fluência de fótons total (400 a 800 nm).

Situação ambiental	Valores de $\zeta$	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Luz do dia	1,15 a 1,25	1.900
Aurora/crepúsculo	0,65 a 1,15	26,5
Sob 5 mm de solo	0,88	8,6
Sob dossel de cultura de trigo	0,2 a 0,5	-
Sob dossel de cultura de beterraba	0,11 a 0,45	-
Sob dossel de floresta tropical	0,22 a 0,30	-
Sob dossel de floresta de carvalho	0,5 a 0,75	-

Fonte: Hopkins (1995); Smith (1982).

as formas Fve e Fv nas células das plantas. A razão entre a concentração de Fve e o conteúdo total do fitocromo (Fve/Fv) reflete, portanto, a qualidade da radiação que incide sobre as plantas. Essa razão é simbolizada pela letra grega  $\phi$  (Smith e Whitelam, 1990).

$$\phi = [Fve]/[Fv+Fve] \text{ ou } \phi = [Fve]/[F_{total}]$$

Os valores de  $\phi$  nas células controlam inúmeros processos moleculares e celulares que resultam em mudanças no crescimento e desenvolvimento das plantas. Plantas iluminadas com luz solar, rica em fótons de V, apresentam um elevado valor da razão  $\phi$ , enquanto as sombreadas apresentam valores de  $\phi$  menores. Quanto maior o número de folhas atravessadas pela luz (nível de sombreamento), menor a razão zeta da radiação e, consequentemente, menores serão os valores de  $\phi$ .

O fitocromo desempenha um papel importante na fotomodulação de uma grande variedade de respostas de desenvolvimento. Estas, por sua vez, têm enorme repercussão adaptativa e ecológica para as plantas. As funções ecofisiológicas que o fitocromo desempenha são:

- Controle da germinação de sementes fotoblásticas
- Desestiolamento de plântulas recém-germinadas
- Modulação do crescimento e da forma de plantas iluminadas
- Detecção da aurora e do crepúsculo
- Sincronização do relógio biológico
- Percepção fotoperiódica.

### Controle da germinação de sementes fotoblásticas

Em geral, sementes pequenas e com poucas reservas, bem como aquelas de espécies arbóreas pioneiras pertencentes aos estratos superiores de uma floresta, apresentam *fitodormência*. Tais sementes tendem a ser fotoblásticas positivas. No interior de florestas, permanecem fotodormentes na superfície do solo, enquanto a comunidade vegetal estiver intacta (baixa razão zeta). Entretanto, a fitodormência é quebrada quando há a abertura de uma clareira ou quando as sementes são transportadas para fora da floresta. Sementes iluminadas com luz solar direta (elevada razão zeta) são estimuladas a germinar em virtude do aumento da forma Fve do fitocromo (elevação da razão  $\zeta$ ). A dormência das sementes fotoblásticas positivas sob o dossel proporciona a formação de um banco de sementes no interior da floresta, permitindo a regeneração natural da mata quando de aberturas de clareiras. Nesse caso, é bem ilustrativa a germinação de sementes da embaúba (*Cecropia*) em clareiras abertas no interior das matas brasileiras. O mecanismo da fitodormência permite, ainda, a expansão dos limites da comunidade vegetal pela dispersão e germinação das sementes em locais descampados nas bordas das matas.

Plantas invasoras (daninhas) também costumam apresentar sementes fotoblásticas positivas. Tais sementes podem permanecer enterradas no solo por longos períodos até que operações agrícolas revolvam o solo, expondo-as à luz solar por um breve período. Esse estímulo luminoso é percebido pelo fitocromo, podendo a germinação ser uma resposta de baixa fluência (RBF) ou de fluência muito baixa (RFMB). Isso explica o motivo pelo qual, em áreas recém-capinadas, é comum o aparecimento de populações de plantas daninhas cuja presença não era antes detectada. No plantio direto, o solo permanece recoberto com palha, proporcionando uma redução significativa das populações de plantas invasoras. Em parte, tal sucesso no controle quantitativo dessas espécies indesejáveis se deve à redução da frequência de germinação de suas sementes em virtude da manutenção das sementes em condição de fitodormência (ver Capítulo 28).

### Desestiolamento de plântulas recém-germinadas

A luz controla o desenvolvimento durante a emergência das plântulas a partir do solo. Todo o complexo processo de transição entre condição heterotrófica (plântula estiolada) e condição autotrófica é controlado pela luz (ver Figura 15.3).

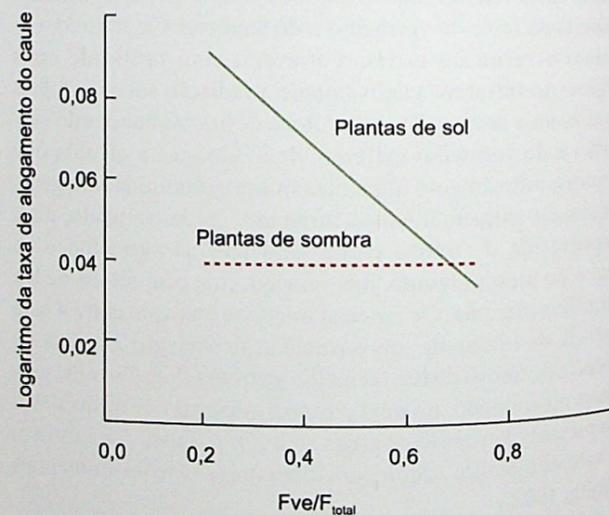
### Modulação do crescimento e da forma de plantas iluminadas

Plantas crescidas sob luz solar são capazes de perceber a proximidade de plantas vizinhas, levando a respostas de evitação de sombra (aumento do crescimento longitudinal do caule).

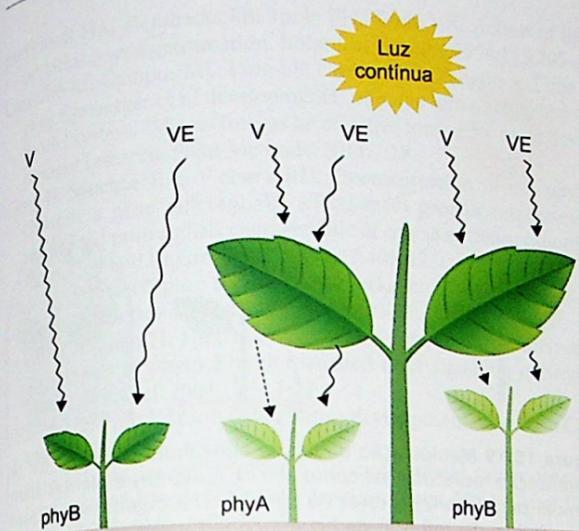
Da mesma forma, plantas adaptadas a ambientes sombreados percebem os diferentes níveis de sombreado, apresentando respostas de desenvolvimento que possibilitam atingir, com rapidez, a radiação solar direta.

As respostas dos vegetais à quantidade de luz do ambiente variam muito entre as espécies. A maioria das plantas adaptadas à sombra (umbrófitas) não responde à diminuição da razão fi, promovida pela redução da razão zeta, ou seja, pelo enriquecimento de luz VE (Figura 15.17). Contudo, as plantas adaptadas ao sol, intolerantes à limitação de luz, têm mecanismos eficientes para evitar a sombra. Quando submetidas à sombra, essas plantas alocam suas reservas para o aumento do alongamento dos entrenós, acelerando o crescimento longitudinal do caule. O preço pago por esse gasto extra de reservas costuma ser a diminuição da área foliar e do sistema radicular, e a inibição do desenvolvimento das gemas laterais (menor ramificação lateral).

As diferentes respostas desencadeadas por phyA e phyB às luzes VE e V contínuas, respectivamente, fornecem à planta a capacidade de inibir o estiolamento. A luz V contínua é absorvida por phy B, estimulando o desestiolamento em virtude da manutenção de elevados níveis da forma Fve de phyB (FveB). A luz VE contínua, absorvida por phyA, atua de modo oposto, mantendo o estiolamento, em razão da redução dos níveis de fitocromo FveB. Entretanto, a fotomorfogênese em ambientes sombreados depende das quantidades relativas de phyA e phyB, bem como das proporções entre V e VE do ambiente (ver Figuras 15.14 e 15.18). Ao ser absorvida por phyA, a luz VE contínua estimula o desestiolamento, enquanto a luz V contínua absorvida pelo mesmo phyA atua de modo oposto, inibindo o desestiolamento. Observa-se que phyA e phyB



**Figura 15.17** Plantas adaptadas ao sol e à sombra respondem de modo diferente às mudanças na qualidade da luz. À medida que aumenta a proporção relativa da radiação V (elevação da razão zeta), há um maior acúmulo das formas ativas dos fitocromo (Fve), aumentando a razão fi ( $Fve/Fv + Fve$ ). A elevação progressiva da razão inibe proporcionalmente o nível de estiolamento em plantas adaptadas ao sol. Nas plantas de sombra, embora a razão fi dos fitocromos seja alterada do mesmo modo, estas não respondem com um correspondente estiolamento ou desestiolamento. Pode-se conjecturar que essas plantas apresentam alterações na via de transdução de sinal do fitocromo.



**Figura 15.18** Efeitos de phyA e phyB na evitação à sombra. Plantas crescendo em clareiras (ambiente rico em luz V) acumulam preferencialmente phyB. Plantas em condições sombreadas (ambiente rico em luz VE) acumulam phyA. Como phyA é instável, ao ser degradado, é posteriormente substituído por phyB. Adaptada de Taiz e Zeiger (2002).

têm atuações antagônicas no controle do desestiolamento, ao detectarem VE e V contínuas, respectivamente. Na abertura de uma clareira em uma vegetação, o sol penetra diretamente com luz rica em V. Nesse caso, a inibição do estiolamento é mediada por phyB. O efeito de phyA na inibição do estiolamento se dá se o comprimento de onda predominante for VE contínuo, o que ocorre apenas em locais sombreados. Sendo phyA lábil e intensamente degradado pela luz, a resposta de plantas intolerantes à condição de sombreado (maior proporção de fótons VE) passa a ser assumida por phyB, permitindo a aceleração da taxa de alongamento do caule, resposta típica de evitação de sombra (Casal, 2013).

### Detecção da aurora e do crepúsculo e sincronização do relógio biológico

O enriquecimento da radiação ambiental com VE no início e ao final do dia é percebido pelo fitocromo. Com isso, promove a sincronização do oscilador endógeno (relógio biológico) aos ciclos naturais de claro e escuro durante 24 h (ver Capítulo 17). Nos ritmos circadianos, a operação do oscilador endógeno ajusta eventos fisiológicos e bioquímicos para que ocorram em certas horas do dia. Um único oscilador pode estar acoplado a múltiplos ritmos circadianos, que podem ocorrer em vários momentos diferentes do ciclo de 24 h.

### Percepção fotoperiódica

Muitas espécies de plantas têm várias etapas do seu ciclo de vida controladas pelo fotoperíodo. Os fitocromos estão envolvidos na percepção do fotoperíodo. Dependendo da espécie e do momento do ciclo de vida, a percepção fotoperiódica pode desencadear o início do desenvolvimento de gemas florais (ver Capítulo 18), da dormência ou da formação de órgãos de reserva como tubérculos, raízes tuberosas, bulbos - Capítulo

21). No fotoperíodo, o fitocromo interage com o relógio biológico das plantas, sinalizando as estações do ano. A interação entre o fitocromo e o relógio biológico é um processo complexo e ainda controverso.

A percepção do fotoperíodo pelas plantas sinaliza mudanças no padrão de desenvolvimento, definindo a época em que determinados eventos importantes, como o florescimento, ocorrerão (ver Capítulo 18), ou seja, o sinal fotoperiódico promove o ajuste (sincronização) das diferentes fases do ciclo de vida de uma espécie às variações sazonais do ambiente. Isso adquire uma importância vital nas regiões de clima temperado, onde as estações do ano são bastante diferentes e definidas. Por sua vez, em regiões tropicais ou subtropicais, o florescimento induzido por fotoperíodos, essa variação, ainda que pequena, pode garantir uma sincronia com a disponibilidade de água, polinizadores ou ausência de outras espécies competidoras durante a germinação subsequente das sementes formadas.

### Controle do desenvolvimento pela luz azul

Tanto a luz azul quanto a ultravioleta banda A (UVA), não direcionadas, promovem várias respostas nas plantas, como a inibição do alongamento do caule e do hipocótilo, a expansão foliar, o florescimento fotoperiódico, a interação com o relógio biológico, a estimulação da síntese de clorofilas e carotenoides, a síntese de antocianinas, o movimento estomático e o controle da expressão gênica. A utilização da técnica molecular de "análise de microarranjos"\* indicou que um terço dos genes de *Arabidopsis* apresentavam mudanças no padrão de expressão em resposta à luz azul (Lin e Shalitin, 2003).

No entanto, quando esses dois tipos de luzes são direcionados, unilateralmente, promovem a expansão assimétrica do caule, levando à curvatura fototrópica em direção à fonte luminosa (ver Capítulo 16). Análises genéticas de mutantes fotomorfogênicos indicaram que as respostas à luz azul podiam ser mediadas por vários fotorreceptores diferentes. Os mutantes *hy4* e *blu 1, 2 e 3* de *Arabidopsis* não apresentavam inibição do alongamento do hipocótilo em presença da luz azul, embora mantivessem a curvatura fototrópica similar ao genótipo selvagem em resposta à iluminação unidirecional. Inversamente, outros dois mutantes diferentes dessa planta mostraram-se insensíveis à luz azul direcional, ou seja, não manifestaram curvatura fototrópica, mas apresentavam a inibição típica do alongamento do caule em resposta à luz azul não direcional. Essas observações permitiram concluir que existem fotorreceptores distintos para a percepção do sinal de luz azul direcional e não direcional (Quail, 1994).

Os *criptocromos* medeiam a percepção da luz azul não direcional. Plantas deficientes em *criptocromo* apresentam hipocótilo alongado em presença de luz azul. Desde o isolamento

\* A análise de microarranjos (*microarrays*) consiste, basicamente, na detecção de quais genes estão sendo expressos em determinado tecido ou estágio do desenvolvimento vegetal. Isso é possível por meio da hibridação de seus cDNAs (obtidos de RNAm desconhecidos) em placas contendo uma matriz de RNAm de sequências previamente conhecidas. Os projetos transcritômicos (EST) têm facilitado muito a análise de microarranjos, já que disponibilizam um grande número de RNAm de sequência conhecida.

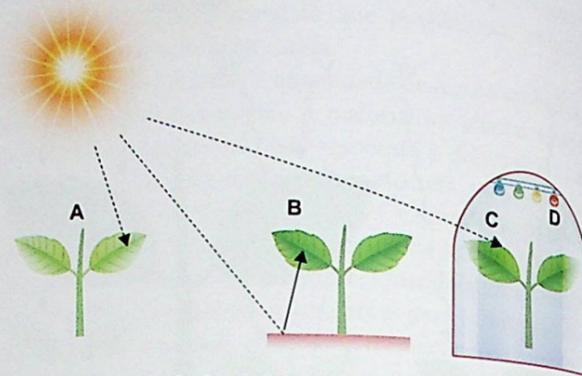
do primeiro criptocromo em *Arabidopsis* (CRY1), em 1993, ele tem sido encontrado em todas as células eucarióticas estudadas. Nessas plantas, foram identificados dois genes que codificam criptocromos (CRY1 e CRY2) e, no tomateiro, três genes (CRY1a, CRY1b e CRY2). Quimicamente, os criptocromos são flavoproteínas cuja porção proteica apresenta similaridade estrutural com as fotoliasas presentes em procariotos e eucariotos. Fotoliasas são proteínas reparadoras de DNA ativadas pela radiação UV. Acredita-se que as fotoliasas sejam precursoras evolutivas dos criptocromos. Esses fotorreceptores são proteínas nucleares que participam de eventos como o controle do alongamento do caule, a expansão foliar, o controle fotoperiódico e o relógio biológico circadiano. Estudos recentes indicam que os criptocromos podem ser fosforilados pela luz azul, levando a mudanças na sua conformação estrutural, nas interações intermoleculares e, por fim, na atividade fisiológica das plantas (Lin e Shalitin, 2003).

A luz azul direcional apresenta um pico de absorção em 370 nm (UVA) e três picos diferentes no azul (400 a 500 nm). Os fotorreceptores responsáveis pela resposta fototrópica foram denominados *fototropinas*. Até o momento foram encontrados dois genes que codificam para fototropinas em *Arabidopsis* (*Phot1* e *Phot2*). As fototropinas são proteínas cuja metade C-terminal, isto é, a terminação polipeptídica em carboxila, é uma cinase serina/treonina. A metade N-terminal da proteína (terminação polipeptídica em grupo amino) liga-se a mononucleotídeos de flavina (FMN). Dados experimentais indicam que as fototropinas se autofosforilam ao absorverem luz azul.

### Fotomorfogênese na agricultura

É compreensível que a fotossíntese constitua o principal evento pelo qual a luz promove o desenvolvimento dos vegetais (ver Capítulo 5). Não à toa, a manipulação desse importante evento fisiológico é de suma importância para o melhoramento vegetal. A sinalização da luz por meio de *fotorreceptores* não fotossintéticos tem sido objeto de interesse crescente na ciência vegetal, seja pelo emprego de plantas mutantes e transgênicas, seja por meio de modificações da intensidade e da qualidade luminosa pelo uso de coberturas coloridas de casas de vegetação e do solo, além do uso de fonte adicional de luz artificial (Figura 15.19). A reflexão da luz obtida pelo emprego de filmes plásticos de coloração vermelha ou azul como coberturas do solo tem apresentado resultados positivos, tanto no incremento do crescimento vegetativo em si (alface, cenoura) quanto na produção de frutos, como tomate e moranguinho (Decoteau *et al.*, 1989; Decoteau, 1990; Antonious e Kasperbauer 2002; Loughrin e Kasperbauer 2002). Além da mudança qualitativa da luz, a utilização de coberturas coloridas em cultivos protegidos pode vir acompanhada, favoravelmente, do controle da temperatura, favorecendo a produção vegetal. O crescimento de cafeeiros ainda novos foi incrementado quando cultivados sob tela vermelha, o mesmo tendo sido observado para tomateiro e pepineiro (Ilić *et al.*, 2012; Henrique *et al.*, 2011; Ilić e Fallik, 2017).

Vale mencionar que, embora venha se intensificando a utilização de técnicas de produção baseadas na modificação da luz, é importante considerar que as cores utilizadas em coberturas



**Figura 15.19** Manipulação da luz na agricultura por meio de: (A) modificação molecular, tal como uso de mutantes e plantas transgênicas para fotorreceptores ou alteração na quantidade e qualidade da luz; (B) reflexão da luz em coberturas coloridas de solo; (C) transmitância da luz a partir do uso de coberturas coloridas em cultivos protegidos; (D) uso de lâmpadas coloridas adicionais em cultivos protegidos.

de solo ou de casa de vegetação devem se adequar às características fisiológicas das espécies cultivadas, bem como da região de cultivo.

No que diz respeito ao emprego de técnicas moleculares, a superexpressão do fitocromo A nas gramíneas *Agrostis stolonifera* e *Zoysia japônica* que crescem de modo adensado reduziu a síndrome da "evitação" da sombra (Ganesan *et al.*, 2012). Em tomateiro, mutações dos fitocromos tipo B (*phyB1* e *phyB2*) resultaram em plantas tolerantes aos estresses abióticos, como o déficit hídrico, a salinidade, metais pesados, temperatura e UVB, indicando que esses fotorreceptores são parte importante da sinalização de resposta ao estresse. Embora as estratégias utilizadas pelos mutantes *phyB* em tomateiro possam ser por meio do aumento na biossíntese de moléculas associadas às respostas a estresses, como acúmulo de prolina e antocianinas, os mecanismos moleculares pelos quais a tolerância ocorre ainda são pouco elucidados (Gavassi *et al.*, 2017). Entretanto, os mecanismos pelos quais os fitocromos modulam o estresse parecem depender da espécie. Em *Arabidopsis*, mutantes *phyB* mostraram-se menos tolerantes ao déficit hídrico que o controle (Boccalandro *et al.*, 2012), ao passo que o gene que codifica para a proteína *salt tolerance* (STO), parte das respostas à alta salinidade, foi induzida no mutante *phyB* quando cresceu nessa condição (Indorf *et al.*, 2007). Dessa forma, não será surpresa daqui para a frente se muitos genes de respostas aos estresses estiverem associados aos fitocromos ou, até mesmo, aos criptocromos. De fato, os receptores de luz azul também têm mostrado um papel importante nas respostas a estresses, como déficit hídrico (Sharma *et al.*, 2014).

### Referências bibliográficas

- Antonious GF, Kasperbauer MJ, Byers ME. Light reflected from colored mulches to growing Turnip Leaves affects glucosinates and sugar contents of edible roots. *Photochem Photobiol.* 1996;64:605-10.
- Boccalandro HE, Rugnone ML, Moreno JE, Ploschuk EL, Serna L, et al. Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2009;150:1083-92.

- Borthwick HA, Hendricks SB, Toole EH, Toole VK. Action of light on lettuce-seed germination. *Botanical Gazette.* 1954;115:205-25.
- Carvalho RF, Campos ML, Pino LE, Crestana SL, Zsögön A, Lima JE et al. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. *Plant Methods.* 2011;7:18.
- Casal JJ, Sánchez RA, Vierstra RD. Overexpression of oat phytochrome: a gene differentially affects stem growth responses to red/far red ratio signals characteristic of sparse or dense canopies. *Plant, Cell and Environment.* 1994;17:409-17.
- Casal JJ. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. *Annu Rev Plant Biol.* 2013;64:403-27.
- Castillon A, Shen H, Huq E. Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks. *Trends Plant Sci.* 2007;12:514-21.
- Chory J. Light modulation of vegetative development. *The Plant Cell.* 1997;9:1225-34.
- Davière JM, de Lucas, M, Prat S. Transcriptional factor interaction: a central step in DELLA function. *Curr Opin Genet Dev.* 2008;18:295-303.
- Decoteau DR, Kasperbauer MJ, Hunt PG. Bell pepper plant development over mulches of diverse colors. *HortScience.* 1990;25:460-2.
- Decoteau DR, Kasperbauer MJ, Hunt PG. Mulch surface affects yield of fresh market tomatoes. *J Am Soc Hortic Sci.* 1989;114:216-24.
- Fankhauser C. Molecular mechanisms of light-regulated growth and development in plants. s.d. [Acesso em 8 abr 2019]. Disponível em: <https://swissplantscienceweb.unibas.ch/en/fankhauser/>
- Ganesan M, Han YJ, Bae TW, Hwang OJ, Chandrasekhar T, Shin AY et al. Overexpression of phytochrome A and its hyperactive mutant improves shade tolerance and turf quality in creeping bentgrass and zoysiagrass. *Planta.* 2012;236:1135-50.
- Gavassi MA, Monteiro CC, Campos ML, Melo HC, Carvalho RF. Phytochromes are key regulators of abiotic stress responses in tomato. *Sci Hortic.* 2017;222:126-35.
- Henrique PC, Alves JD, Deuner S, Goulart PFP, Livramento DE. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento de mudas de café cultivadas sob telas de diferentes colorações. *Pesq Agropec Bras.* 2011;46:458-65.
- Hopkins WG. Photomorphogenesis – responding to light. In: *Introduction to plant physiology.* New York: John Wiley; 1995. p. 341-62.
- Ilić SZ, Milenković L, Šunić L, Fallik E. Effect of coloured shade-nets on plant leaf parameters and tomato fruit quality. *J Sci Food Agric.* 2015;95:2660-7.
- Ilić ZS, Milenković L, Stanojević L, Cvetković D, Fallik E. Effects of the modification of light intensity by color shade nets on yield and quality of tomato fruits. *Sci Hortic.* 2012;139:90-5.
- Indorf M, Cordero J, Neuhaus G, Rodriguez-Franco M. Salt tolerance (STO), a stress-related protein, has a major role in light signalling. *Plant J.* 2007;51:563-74.
- Kendrick RE, Georghiou K. The germination characteristics of phytochrome-deficient aurea mutant tomato seeds. *Physiologia Plantarum.* 1991;82:127-33.
- Kendrick RE, Kronenberg GHM, editors. *Photomorphogenesis in plants.* 2. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. p. 580.
- Labouriau LG. Fotoblastismo. In: *A germinação das sementes.* Washington, D.C.: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos; 1983. p. 79-99. (Série de Biologia.)
- Lin C, Shalitin E. Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 2003;54:469-96.
- Loughrin JH, Kasperbauer MJ. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenol content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *J Agric Food Chem.* 2001;49:1331-5.
- Nagy F, Schäfer E. Phytochromes control photomorphogenesis by differentially regulated, interacting signaling pathways in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 2002;53:329-55.
- Oh E, Yamaguchi S, Hu J, Yusuke J, Jung B, Paik I, et al. PIL5, a phytochrome-interacting bHLH protein, regulates gibberellin responsiveness by binding directly to the GAI and RGA promoters in *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell.* 2007;19:1192-208.
- Quail PH. Photosensory perception and signal transduction in plants. *Current Opinion in Genetics and Development.* 1994;4:652-61.
- Schmitt J, Wulff RD. Light spectral quality, phytochrome and plant competition. *TREE.* 1993;8:47-51.
- Sharma P, Chatterjee M, Burman N, Khurana JP. Cryptochrome1 regulates growth and development in Brassica through alteration in the expression of genes involved in light, phytohormone and stress signaling. *Plant Cell Environ.* 2014;37:961-77.
- Smith H, Whitelam GC. Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. *Plant, Cell and Environment.* 1990;13:695-707.
- Smith H. Light quality, photoperception, and plant strategy. *Annual Review Plant Physiology.* 1982;33:481-518.
- Somers DE, Quail PH. Temporal and spatial expression patterns of PHYA and PHYB genes in *Arabidopsis*. *The Plant Journal.* 1995;7(3):413-27.
- Taiz L, Zeiger E. Phytochrome and light control of plant development. In: *Plant physiology.* 3. ed. Sunderland: Sinauer; 2002. p. 375-402.
- Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M. Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficient mutants of tomato. *Molecular and General Genetics.* 1995a;246:133-41.
- Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M. A temporary red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. *Plant Physiology.* 1995b;108:939-57.

### Bibliografia

- Salisbury FB, Cleon WR, editors. *Photomorphogenesis.* In: *Plant physiology.* 4. ed. Belmont, California: Wadsworth; 1992. p. 438-63.
- Taiz L, Zeiger E. O fitocromo e o controle do desenvolvimento. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 401-27.
- Taiz L, Zeiger E. Respostas à luz azul: movimentos estomáticos e morfogênese. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 429-47.