

## 1. INTRODUZIONE

Le piante, in quanto organismi sessili, devono continuamente adattare eventi di crescita e di sviluppo per potersi adeguare alle condizioni ambientali fluttuanti. Questa plasticità viene resa possibile dalla capacità che le piante hanno di percepire, trasdurre e integrare molteplici segnali provenienti dall'ambiente circostante, che consentono loro di sincronizzare la crescita con i cambiamenti stagionali e di minimizzare gli effetti delle perturbazioni ambientali. Uno dei segnali più importanti è indubbiamente la luce, che oltre a fornire l'energia necessaria per condurre la fotosintesi, si comporta, a bassa intensità, come segnale morfogenetico.

La luce viene percepita da diversi tipi di fotorecettori specializzati nella trasduzione dell'informazione: i fitocromi, i criptocromi e le fototropine, che assorbono a lunghezze d'onda specifiche nelle bande bioattive del rosso e del blu (Fig. 1).

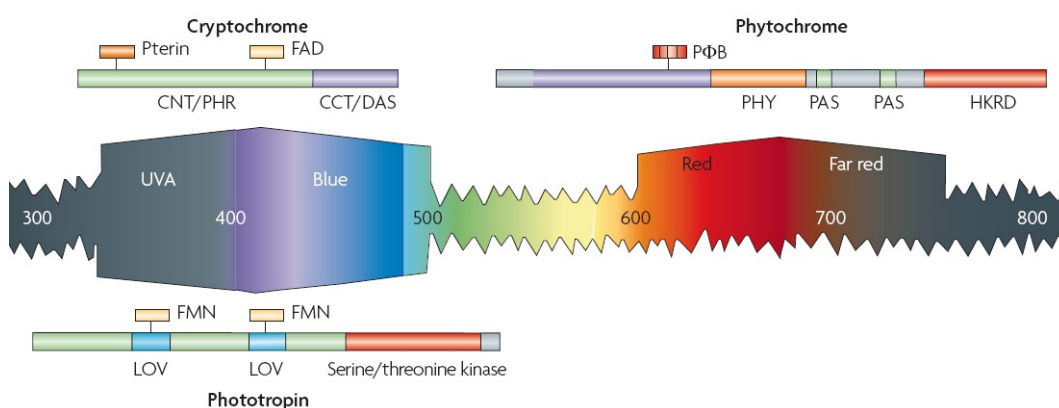


Fig.1. Fotorecettori e spettro di assorbimento (da Jiao et al., 2007).

Recenti evidenze hanno dimostrato che anche la luce verde è responsabile di alcune risposte morfogenetiche e funzionali nelle piante.

## 2. FOTORECETTORI

### 2.1 FITOCROMI

I fitocromi (PHY) sono fotorecettori che assorbono la luce rossa. Sono stati individuati in tutti gli organismi foto-ossigenici, sia procarioti (cianobatteri), sia eucarioti (alghe, tallofite e cormofite). Si presentano come eterodimeri solubili in cui ogni monomero è costituito da una proteina di 124 kDa e da un cromoforo, un tetrapirrolo lineare (bilina). Mentre il primo anello pirrolico del cromoforo si lega alla proteina mediante legame tiolico con una cisteina, l'ultimo presenta isomeria cis-trans determinata da un doppio legame. La proteina del fitocromo contiene una serie di domini con funzioni essenziali per l'attività del fotorecettore. Nella molecola si distinguono una regione fotosensoria N-terminale e una regolatoria C-terminale, collegate mediante una regione cardine. Nella regione N-terminale, che contiene una serina fosforilabile, si trova, tra gli altri, il dominio GAF a cui si lega il cromoforo. La regione C-terminale contiene un dominio HKRD (Histidine Kinase Related Domain) e un sub-dominio NLS (Nuclear Localization Signal) necessario per l'importo della molecola nel nucleo. La molecola presenta anche un dominio con attività serina/treonina chinasi responsabile della autofosforilazione del fitocromo e della fosforilazione fitocromo-indotta di altre proteine coinvolte nella via di segnalazione. Mentre la frazione N-terminale contiene le attività fotochimiche e fotobiologiche

essenziali, i domini C-terminali sono coinvolti nella dimerizzazione, nella localizzazione nucleare e nelle interazioni del fitocromo con proteine specifiche. Dei fitocromi esistono due isomeri fotoconvertibili, indicati come Pr e Pfr. La cellula sintetizza la forma Pr che assorbe la luce rossa con un picco a 660nm convertendosi in Pfr. Quest'ultima è la forma biologicamente attiva che assorbe nel rosso lontano con un massimo a 730nm. L'assorbimento a questa  $\lambda$  riporta il PHY alla forma Pr (Fig. 2).

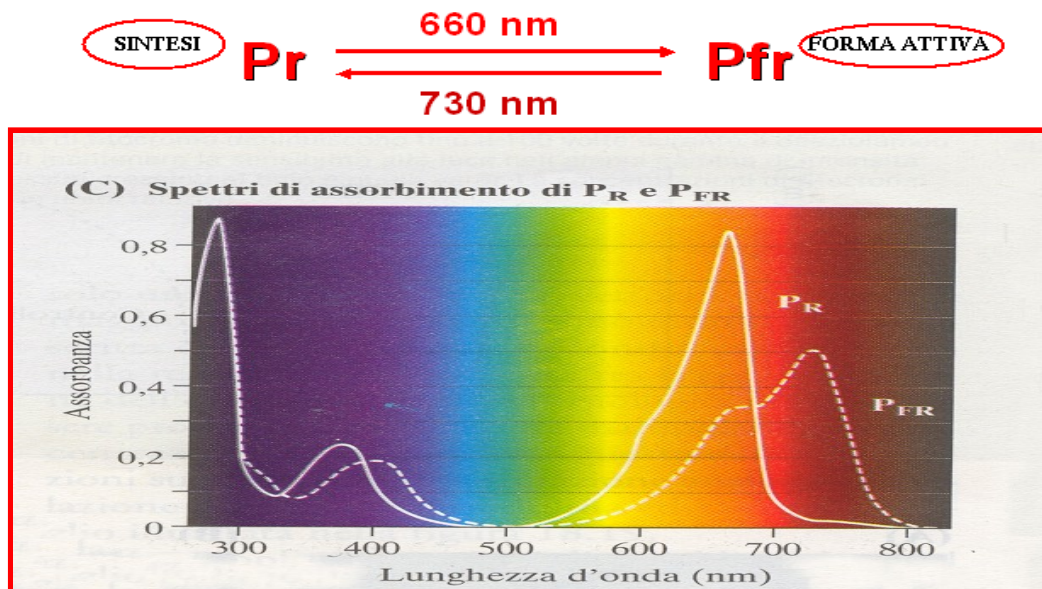


Fig.2. Conversione del fitocromo da parte della luce R(660nm) e FR (730nm) e spettro di assorbimento delle due forme del fotorecettore (da Tai $\chi$  & Zerger, 2009).

Gli spettri di assorbimento delle due forme di fitocromo sono, tuttavia, in parte sovrapponibili (Fig. 2) e da ciò ne consegue che la luce R converte solo l'85% del Pr in Pfr mentre la luce FR converte il 97% del Pfr in Pr. Si viene così a stabilire un equilibrio tra Pr e Pfr, che costituisce lo **"stato fotostazionario"** del recettore.

La conversione della forma Pr in Pfr avviene attraverso modificazioni sia del cromoforo, sia della proteina (Bae & Choi, 2008). Nel cromoforo avviene l'isomerizzazione da cis a trans del doppio legame che coinvolge il C15 e il C16 dell'ultimo anello pirrolico. La proteina, di conseguenza, subisce un cambio strutturale e una autofosforilazione del residuo di serina. Ciò si traduce nell' "apertura" della molecola e nell'esposizione dei domini delle regioni N e C-terminali (Fig. 3).

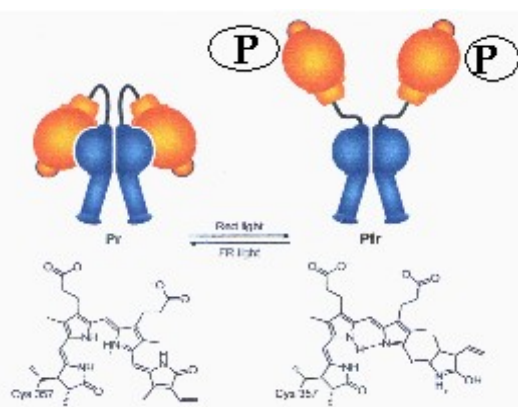


Fig.3. Cambi strutturali nel passaggio da Pr a Pfr (da Bae & Choi,2008) (modificata)

Così costituito, il Pfr migra per la maggior parte nel nucleo dove innesca tutta una serie di risposte fisiologiche. Pr e Pfr si trovano in una condizione di equilibrio dinamico e la proporzione relativa di ognuno dipende dalla qualità della luce, che

viene comunemente descritta attraverso il rapporto di flusso fotonico **R:FR** (RED/FAR RED).

$$\text{R:FR} = \frac{\text{velocità delle fluenza fotonica in una banda di 10nm centrata su 660nm}}{\text{velocità delle fluenza fotonica in una banda di 10nm centrata su 730nm}}$$

Da esso dipende il valore del **fotoequilibrio**  $\varphi$  che corrisponde al rapporto **Pfr/Pfr+Pr**. È il valore di  $\varphi$  che la pianta percepisce come segnale in grado di dare informazioni sul tipo di luce a cui è esposta.

In *Arabidopsis* sono stati isolati cinque geni distinti, **PHYA, PHYB, PHYC, PHYD e PHYE** che codificano per altrettante forme di fitocromi: PHYA-E (Sharrock & Quail, 1989; Clark *et al.*, 1994). Di questi, PHYA è fotolabile e viene sintetizzato in grande quantità nelle piante eziolate; PHYB-E sono invece fotostabili e prevalgono nelle piante cresciute alla luce.

Le risposte fisiologiche mediate rispettivamente dal fitocromo nel citoplasma e nel nucleo, si suddividono in veloci e lente: le prime coinvolgono pompe e canali ionici e variazioni del potenziale di membrana; le seconde, comportano espressione genica, sintesi proteica e attività ormonali. È inoltre opportuno ricordare che risposte diverse vengono attivate a seconda della quantità di luce rossa e si distinguono in VLFR, LFR e HIR.

**VLFR** sta per Very Low Fluence Response, indicando una richiesta molto bassa di fluenza fotonica. Sono sufficienti appena 0,1 nmol/m<sup>2</sup> perché, ad esempio, venga inibita la crescita del mesocotile di avena e stimolata quella del coleotile. Questa quantità di luce rossa estremamente bassa, circa 1/10 della luce emessa da un singolo flash di una lucciola, converte circa lo 0,02% della forma Pr in Pfr, sufficiente ad innescare la risposta. Poiché gli spettri di assorbimento delle due forme si sovrappongono parzialmente, non tutto il Pfr viene convertito a Pr dalla luce FR: ne rimane un 3% che è più di quanto è necessario per mantenere la risposta. Ne consegue che le VLFR non sono fotoreversibili. Le risposte VLFR sono proprie delle piantine eziolate esposte alla luce e sono mediate in modo specifico da PHYA (Taiz & Zenger, 2009).

Al contrario, le **LFR** (Low Fluence Response) sono reversibili e possono essere indotte/inibite dalla luce R/FR. La reversibilità di queste risposte alle due lunghezze d'onda, comunque, dura un certo periodo di tempo, oltre il quale l'azione primaria del PHY è terminata e la serie di reazioni che porta alla risposta morfogenetica ha superato un punto di non ritorno. Questo fenomeno è noto come “**fuga dalla fotoreversibilità**” della risposta (Taiz & Zeiger, 2009).

Le risposte LFR richiedono una fluenza di 10 μmol/m<sup>2</sup>, sono le più frequenti e vedono principalmente coinvolte le forme fotostabili di fitocromo (PHYB-E). Una di queste risposte è il differenziamento dei cloroplasti alla luce. Nelle piantine cresciute al buio, infatti, sono presenti gli ezioplasti che non contengono la clorofilla, ma il suo precursore denominato protoclorofilla; questa è contenuta all'interno dei corpi prolamellari paracrillini formati da una serie di membrane tubulari interconnesse. In seguito all'esposizione alla luce, il fitocromo induce la fotoconversione dell'ezioplasto a cloroplasto con la formazione della clorofilla e del sistema tilacoidale (Pupillo *et al.*, 2003). Un'altra LFR consiste nella germinazione dei semi fotoblastici. Esperimenti condotti su semi di lattuga mostrano che la

germinazione avviene solo dopo l'esposizione ad un impulso di luce R o ad una serie di flash alterni di luce R/FR, di cui l'ultimo è R.

Piantine cresciute al buio mostrano un fenotipo caratteristico, che consiste nella mancata espansione dei cotiledoni, persistenza dell'uncino apicale, ipocotile allungato e pigmentazione gialla. Tuttavia, basta un'esposizione alla luce rossa di appena cinque minuti al giorno per permettere l'espansione fogliare e l'apertura dell'uncino, mentre è necessario che l'esposizione sia prolungata per la sintesi della clorofilla.

Le risposte **HIR** (High Irradiance Response) richiedono una irradianza di  $10 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$  prolungata nel tempo e comprendono: produzione di antociani, espansione dei cotiledoni e inibizione dell'allungamento dell'ipocotile in piantine eziolate di lattuga. Le risposte **FR-HIR** sono indotte dall'esposizione continua alla luce FR e presentano uno spettro di azione particolare con un picco massimo nel rosso lontano a 718 nm dovuto all'induzione del fotoequilibrio tra le due forme di fitocromo. Caratterizzano questo spettro anche un picco nel blu e UV-A, indicando il coinvolgimento dei criptocromi. Le FR-HIR sono proprie delle piante eziolate appena esposte alla luce e sono mediate dal PHYA (Kirchers *et al.*, 2002). A causa della fotolabilità di questa forma di fitocromo le FR-HIR sono transienti e, a mano a mano che il deeziolamento prosegue, passano dalla sensibilità al FR a quella al R (R-HIR) e dalla mediazione del PHYA a quella del PHYB (Kevei *et al.*, 2007). In base a ciò si può concludere che il fitocromo media una serie di risposte che permettono alla pianta di passare da una morfologia adatta all'ambiente eziolato del sottosuolo (scotomorfogenesi) ad una morfologia adatta alla crescita in presenza di luce e al suo sfruttamento come risorsa energetica (fotomorfogenesi).

### 2.1.1 FITOCROMO E FUGA DALL'OMBRA

Il rapporto R:FR (e quindi  $\phi$ ) varia nell'ambiente con le condizioni meteorologiche e stagionali (Holmes & Smith, 1977), ma subisce fluttuazioni maggiori durante l'alba e il tramonto. In questi periodi, l'altezza del sole è ridotta mentre è elevato il percorso dei raggi solari attraverso l'atmosfera. Questo comporta un maggior assorbimento e dispersione delle lunghezze d'onda più corte e, di conseguenza, una proporzione elevata di quelle più lunghe sulla superficie terrestre. Ciò si traduce in un aumento della luce FR e quindi, in un calo del rapporto R:FR. La variazione più significativa nello spettro solare, tuttavia, si ha quando la luce è trasmessa o riflessa dalla vegetazione. Dal momento che i pigmenti fotosintetici (clorofille e carotenoidi) assorbono i fotoni nelle bande del blu e del rosso, al di sotto di una copertura vegetale la luce si arricchisce nelle regioni dello spettro meno assorbite, in particolare nella banda del verde e del rosso lontano (Fig. 4). La riduzione della luce rossa assorbita dalle piante sovrastanti e la conseguente diminuzione di R:FR viene percepita dalle piante come un segnale di pericolo e precisamente come la carenza di luce come risorsa energetica.

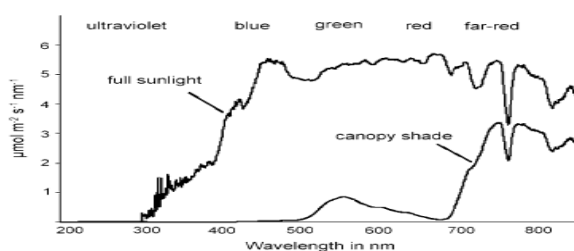


Fig.4. Cambiamento dell'energia dei fotoni al di sotto di una copertura vegetale rispetto a condizioni di illuminazione diurna (da Folta & Marubnich, 2007).

Da un esperimento condotto con una singola foglia di *Arabidopsis* è stato rilevato che la foglia filtrava la luce del giorno riducendo la PAR (Photosynthetically Active Radiation) da 1500 a 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  e causando la caduta del valore di R:FR da 1.2 a 0,2. Con l'aggiunta di una seconda foglia si registrava un'ulteriore diminuzione di questi valori, rispettivamente a 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  e 0,1 (Franklin, 2008). Da questi dati si può evincere come la luce del giorno sia fortemente alterata al di sotto di una copertura vegetale. Le risposte messe in atto da una pianta coperta da altre piante variano a seconda della specie e dell'ambiente in cui la pianta in questione vive. Le piante che tollerano l'ombra (denominate sciafile) mostrano fusti ridotti, cicli vitali accelerati e foglie con adattamenti tali da permettere lo sfruttamento massimo della luce a intensità basse. Infatti, le foglie sono più sottili e molto espanse e l'epidermide presenta cellule a forma di lente per convergere la luce nel mesofillo; inoltre, aumenta in esse il contenuto di clorofilla (Boardman, 1977; Middleton, 2001). Tutti questi adattamenti rientrano nel normale piano di sviluppo delle piante sciafile poichè esse vivono costantemente in scarsa luce R.

Le piante che vivono in ambienti aperti e ben irradiati (piante di sole) innescano invece molteplici risposte note nel complesso come “**sindrome di fuga dall'ombra**” (Smith & Whitelam, 1997). Queste includono un rapido allungamento del fusto e dei piccioli e l'orientamento verso l'alto delle foglie (iponastia) con la riduzione della lamina fogliare, una strategia che aumenta la probabilità di raggiungere la luce e di uscire dalla copertura (Fig. 5). Si aggiungono l'aumento della dominanza apicale (e quindi si formano meno rami laterali) e la diminuzione del contenuto in clorofilla dei tessuti fogliari. Inoltre, se la pianta continua a percepire un basso valore di fotoequilibrio, viene anticipata la fioritura e, di conseguenza, lo sviluppo dei semi, innalzando la probabilità del successo riproduttivo (Halliday *et al.*, 1994; Dudley & Schmitt, 1995; Donohue *et al.* 2001).

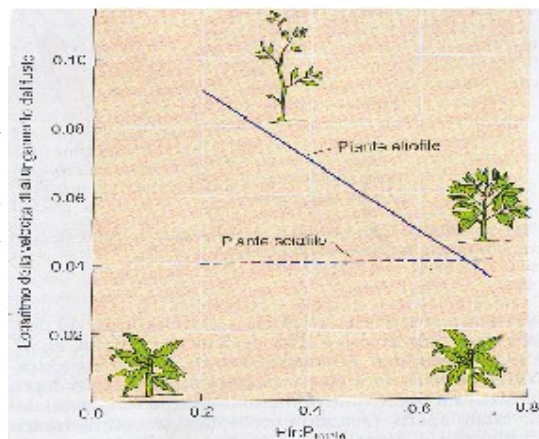


Fig. 5. Consequenze della percezione dell'ombra in piante di sole e in piante sciafile (da Morgan & Smith, 1979).

Nelle risposte ad un basso valore di R:FR sono coinvolti diversi fitocromi, in particolar modo PHYB. Studi condotti su *Arabidopsis* dimostrano che mutanti mancanti di *PHYB* presentano sempre fenotipi che esprimono le strategie di fuga dall'ombra anche in piena luce (López-Juez *et al.*, 1990; Nagatani *et al.*, 1991; Somers *et al.*, 1991). Questo porta a ritenere che PHYB operi nella soppressione di tali risposte. È stato osservato, tuttavia, che in questi mutanti la capacità di rispondere a condizioni di R:FR basso non è del tutto soppressa e ciò suggerisce che altri fitocromi siano coinvolti. In effetti, una mutazione in *PHYD* isolata in un ecotipo di *Arabidopsis* ha evidenziato come anche PHYD agisca nella soppressione delle risposte di fuga dall'ombra. Il ruolo funzionale di tale fitocromo è stato rilevato anche da analisi condotte su doppi mutanti *phyB/phyD*. Questi ultimi mostravano ipocotili e piccioli più lunghi e una fioritura accelerata rispetto ai mutanti singoli (Aukermann *et al.*, 1997; Devlin *et al.*, 1999). Esperimenti eseguiti su mutanti *phyE* hanno suggerito in modo simile anche il coinvolgimento di PHYE (Devlin *et al.*, 1998).

### 2.1.2 RISPOSTE NUCLEARI AI FITOCROMI

In seguito alla conversione del fitocromo da Pr alla forma attiva Pfr, viene innescata una serie di eventi che porta alle risposte della pianta alla luce. Come detto in precedenza, una parte di essi si verifica direttamente nel citoplasma, per l'induzione di risposte rapide, come la chiusura delle foglie nei movimenti nictinastici. I fitocromi, tuttavia, mediano gran parte delle risposte alla luce nel nucleo: qui formano delle aggregazioni transienti, i tPNB (transient Phytochrome Nuclear Body), in cui inizia la cascata di eventi che porta alle risposte morfogenetiche (Kevei *et al.*, 2007). Nel complesso, i fitocromi regolano l'espressione del 10-30% dell'intero genoma della pianta.

Il PHYB, entra nel nucleo nella forma Pfr in seguito allo smascheramento foto-indotto del sub-dominio NLS. Il PHYA manca di NLS e la sua traslocazione richiede l'interazione tra un sito smascherato nella conformazione Pfr e un fattore aggiuntivo come FHY1 (Far Red Helongated Hypocotyl 1), una proteina che fornisce il segnale di importo (Fankhauser & Chen, 2008). Mentre la traslocazione nel nucleo di PHYB è indotta solo dalla luce R ed è invertita dalla luce FR, quella di PHYA avviene anche in risposta alla luce FR e a valori di fluenza molto bassi (PHYA, infatti, media le VLFR e le FR-HIR). Nei tPNB del PHYA è presente **COP1**, una particolare ubiquitina ligasi E3 coinvolta nella degradazione alla luce di questo fitocromo fotolabile (Chen, 2008). COP1 è coinvolto anche nella repressione dello sviluppo fotomorfogenetico della pianta in condizioni di buio. Al buio COP1 si trova nel nucleo dove catalizza l'ubiquitinazione e la successiva degradazione via proteasoma 26S di fattori di trascrizione che regolano in senso positivo la fotomorfogenesi della pianta. Alla luce, invece, COP1 viene traslocato nel citoplasma, permettendo così il legame tra questi fattori di trascrizione e i promotori dei geni responsabili dello sviluppo fotomorfogenetico. Durante la fase di transizione dal buio alla luce, l'importazione di PHYA nel nucleo nella forma Pfr avviene più rapidamente rispetto all'esportazione di COP1, pertanto, COP1 può ancora agire nel processo di demolizione nucleare di questo fitocromo. Data la sua fotolabilità, PHYA, quando una pianta eziolata viene esposta alla luce, opera mediando una rapida espressione dei cosiddetti "geni precoci" o "geni di risposta primaria", codificanti principalmente per fattori di trascrizione. Il PHYB, foto-stabile, è invece coinvolto nella successiva induzione dell'espressione di "geni tardivi" o "geni di risposta secondaria", correlati con la fotosintesi e con il metabolismo energetico.

#### 2.1.2.1 Phytochrome interacting factors (PIF)

Un ruolo chiave nella trasduzione del segnale luminoso è giocato dai **"fattori di interazione con il fitocromo"** (PIF = Phytochrome Interacting Factor) (Duek & Fankhauser, 2005; Monte *et al.*, 2007). Le proteine PIF appartengono alla famiglia dei fattori di trascrizione bHLH (basic Helix Loop Elix). La prima proteina PIF ad essere identificata è stata PIF3 ed è stato dimostrato che essa è in grado di legare, *in vivo*, la forma Pfr sia di PHYA, sia di PHYB, migrate nel nucleo dopo la fotoattivazione (Ni *et al.*, 1998, 1999) (Fig. 6). Il legame avviene tramite un dominio conservato di PIF indicato come APB, ossia, Active Phytochrome Binding (Khanna *et al.*, 2004). Saggi di immunoprecipitazione hanno evidenziato che alcuni PIF, come PIF4, si legano saldamente a PHYB e più debolmente a PHYA (Huq & Quail, 2002), mentre altri, come PIF5, legano solo PHYB (Shen *et al.*, 2007). In ogni caso, l'interazione si traduce in una rapida fosforilazione PHY-indotta che marca il PIF per



l'ubiquitinazione condotta da una ubiquitina ligasi E3, localizzata a livello dei tPNB. Questo processo è seguito dalla degradazione dei PIF mediante proteasoma 26S. Analisi condotte su mutanti hanno rivelato il ruolo delle proteine PIF nella fuga dall'ombra (Lorrain *et al.*, 2008): piante prive di *PIF4* mostrano ipocotili corti sia in condizioni di basso, sia di alto R:FR, così come i doppi mutanti *pij4pij5*, dove anche i piccioli presentano un ridotto allungamento. Al contrario, piante sovraesprimenti *PIF4* o *PIF5*, o mancanti del dominio APB, sono caratterizzate da un fenotipo costitutivo della fuga dall'ombra, indipendente dal valore di R:FR (Khanna *et al.*, 2004; Lorrain *et al.*, 2008). Si può concludere, pertanto, che le proteine PIF promuovono, in basso R:FR, l'espressione di geni coinvolti nella fuga dall'ombra, resa possibile dall'esportazione dal nucleo del fitocromo dopo la riconversione indotta dal FR da Pfr a Pr. Un ruolo importante viene svolto anche da PIF1 e PIF3: PIF1 interviene nella repressione della germinazione dei semi fotoblastici e nella sintesi della protochlorofillide; sulle risposte della pianta al fitocromo PIF3 opera sia in senso negativo, perché inibisce molte risposte morfologiche del deeziolamento, sia in senso positivo, dato il suo coinvolgimento nell'espressione dei geni della sintesi delle antocianine e dei geni nucleari codificanti per enzimi della sintesi della clorofilla e per componenti del cloroplasto necessari alla formazione di un apparato fotosintetico funzionale (Castillon *et al.*, 2007).

La quantità di PIF diminuisce dopo l'esposizione alla luce a causa della demolizione indotta dai fitocromi, ma aumenta se le piante vengono rimesse al buio. Per questo motivo, i PIF operano sia nella transizione iniziale dal buio alla luce durante il deeziolamento, sia nei cicli luce-buio ai quali la pianta è esposta giornalmente. Da uno studio recente è emerso come la produzione dei trascritti di *PIF4* e *PIF5* dipenda anche da un controllo mediato dall'orologio circadiano (Franklin, 2008).

### 2.1.2.2 Fitocromi e proteine DELLA

Mutanti *pij4pij5* conservano in parte la capacità di rispondere a cambiamenti del valore di  $\phi$ . Questo suggerisce che altri meccanismi siano coinvolti nella risposta (Lorrain *et al.*, 2008). Studi recenti hanno dimostrato, ad esempio, che le risposte di fuga dall'ombra possono essere mediate dall'interazione tra la via di segnalazione del fitocromo e quella delle gibberelline (GA), che vede coinvolte proteine della famiglia DELLA (Fig. 6).

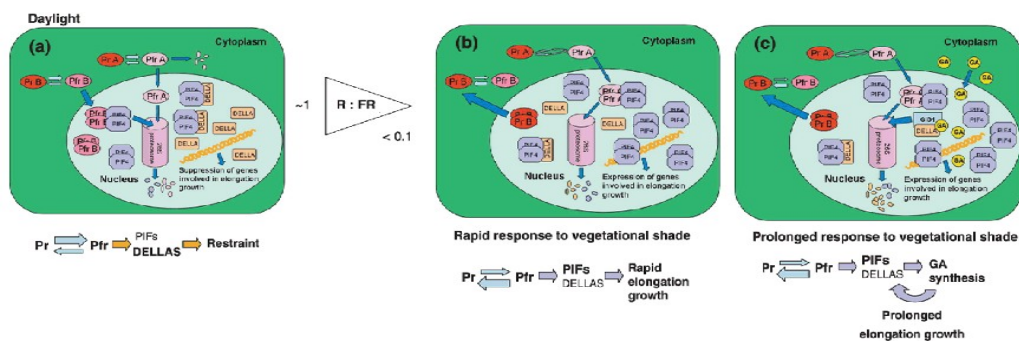


Fig. 6. Meccanismi molecolari dell'interazione delle vie di segnalazione delle GA e della luce (da Franklin, 2008) (modificata).

Attualmente è noto che quest'ultime frenano la crescita della pianta agendo come inibitori della risposta alle GA e che la ricezione dell'ormone e l'attivazione della via di trasduzione si traduce nella degradazione GA-indotta delle proteine DELLA mediante la via dell'ubiquitina/proteosoma 26S (McGinnis *et al.*, 2003; Dill *et al.*,

2004), con la conseguente attivazione delle risposte.

L'interazione tra le due vie di segnalazione (GA e luce) può essere dimostrata attraverso analisi condotte su piantine poste in condizione di basso R:FR, nelle quali si osserva un aumento della degradazione delle proteine DELLA (Fig. 6) (Djakovic-Petrovic *et al.*, 2007). La rimozione dell'inibizione da esse operata sulla crescita GA-indotta determina un aumento della lunghezza degli ipocotili, che non si osserva in mutanti GA-carenti. L'interazione tra le due vie di segnalazione può essere spiegata attraverso un meccanismo molecolare che prevede il legame tra le proteine DELLA e i PIF attraverso, rispettivamente, un dominio con ripetizioni di leucina e il dominio bHLH (De Lucas *et al.*, 2008).

L'interazione fisica si traduce nell'inibizione dell'attività delle PIF e, di conseguenza, nel blocco della trascrizione dei geni implicati nella fuga dall'ombra (De Lucas *et al.*, 2008; Feng *et al.*, 2008).

La degradazione delle DELLA mediata dalle GA rimuove l'inibizione consentendo la messa in atto delle strategie di fuga dall'ombra, tra cui l'allungamento della pianta. Le proteine PIF possono essere considerate quindi un punto nodale tra la via di segnalazione delle GA e della luce.

## 2.2 CRIPTOCROMI

I criptocromi sono i fotorecettori il cui spettro di assorbimento è maggiore nel blu (400nm-500nm), con un picco a 450nm, e meno elevato nell'UV (300-400nm con un picco a 360nm). Il dibattito sulla loro natura si è protratto per lungo tempo, dal momento che alcuni scienziati ritenevano fossero caroteni, altri riboflavine. La caratterizzazione molecolare ha poi dimostrato come i criptocromi siano flavoproteine (70-80 KDa) solubili, aventi due domini distinti. Il dominio N-terminale PHR (Photolyase related) lega non covalentemente due cromofori: un MTHF (metenil tetraidrofolato) e un FAD (flavin adenin dinucleotide) (Lin *et al.*, 1995b; Malhotra *et al.*, 1995); nella regione C-terminale è invece presente il dominio DAS, necessario per l'importo della molecola nel nucleo e per le interazioni proteina-proteina (Fig. 7). Il dominio DAS può interagire con il dominio PHR portando la molecola ad assumere una conformazione chiusa, inattiva. L'attivazione indotta dalla luce blu e il passaggio alla conformazione aperta avviene con la fosforilazione di residui multipli di serina del C-terminale, che viene respinto elettrostaticamente dal PHR a causa della carica superficiale negativa. Grazie all'esposizione del C-terminale, la molecola può interagire con proteine specifiche innescando le risposte fisiologiche (Lin & Shalitin, 2003).

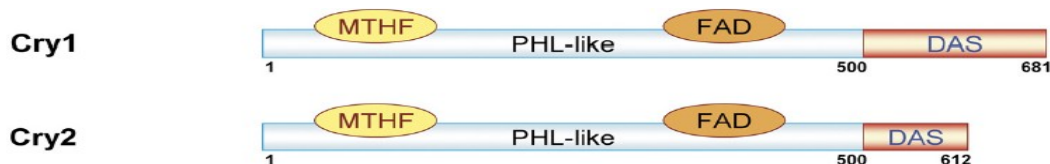


Fig.7. Domini proteici di CRY1 e CRY2 di *Arabidopsis* (da Klar *et al.*, 2007).

I criptocromi, anche se non hanno attività enzimatica, hanno caratteristiche simili alle DNA fotoliasi microbiche (da qui il nome del dominio N-terminale), flavoenzimi che, attivati dalla luce blu, intervengono nella riparazione di danni causati al DNA dalla luce UV.

Sono stati identificati due criptocromi in *Arabidopsis*, CRY1 e CRY2 (Fig. 7), coinvolti nel deeziolamento e nella transizione fiorale. Da ciò si deduce che la luce blu, al pari



della luce rossa, fornisce alle piante un segnale morfogenetico.

Quando una pianta si trova al di sotto di una copertura vegetale sperimenta una riduzione della quantità di luce, non solo rossa, ma anche blu, dal momento che entrambe vengono assorbite dalla vegetazione per condurre la fotosintesi. Questo decremento viene percepito dai fusti ancor prima che le foglie siano completamente ombreggiate (Ballarè *et al.*, 1987, 1991b).

Mediante esperimenti condotti con l'uso di speciali filtri, è stato dimostrato che la rimozione della luce blu causa in numerose specie l'allungamento del fusto (Ballarè *et al.*, 1991a,b) oltre che l'iponastia delle foglie (cioè, l'accrescimento maggiore del picciolo sul lato inferiore che porta le foglie a incurvarsi verso l'alto) (Pierik *et al.*, 2004b), innescando risposte fisiologiche caratteristiche anche della percezione di un basso R:FR. Inoltre, doppi mutanti di *Arabidopsis*, mancanti di *CRY1* e *CRY2*, mostrano una crescita maggiore dell'ipocotile rispetto ai mutanti singoli (Mazzella *et al.*, 2001). Ciò porta a concludere che i due criptocromi agiscono in modo ridondante nell'inibizione della crescita.

L'inibizione dell'allungamento del fusto e l'espansione dei cotiledoni o delle foglie sono risposte della pianta nel corso del deeziolamento e sono mediate non solo dai fitocromi, ma anche dai criptocromi, che interagiscono con essi, e dalle fototropine. Il processo di inibizione dell'allungamento del fusto consta di due fasi sequenziali: la prima è rapida e transiente e vede coinvolte le fototropine; la seconda è più lenta e duratura ed è mediata dal *CRY1* che, dopo l'esposizione alla luce, migra dal nucleo al citoplasma. Questa fase prevede l'attivazione dei canali anionici della membrana cellulare e la seguente fuoriuscita di anioni ( $Cl^-$  in particolare) con depolarizzazione della membrana e inibizione della distensione delle cellule e quindi della crescita in lunghezza del fusto (Spalding, 2000). L'espansione foto-indotta dei cotiledoni è invece mediata da *CRY2*. Quest'ultimo, a differenza di *CRY1*, è sempre localizzato nel nucleo e presenta una pronunciata fotolabilità (Lin *et al.*, 1998).

### 2.3 FOTOTROPINE

Le fototropine sono flavoproteine, fotorecettori della luce blu. Presentano due domini LOV (Light – Oxygen –Voltage: in altre proteine sono attivati oltre che dalla luce, dall' $O_2$  e dal voltaggio) nella parte N-terminale della molecola proteica, che legano FMN come cromoforo; la porzione C-terminale agisce come una chinasi che fosforila residui di serina/treonina (Fig. 8).



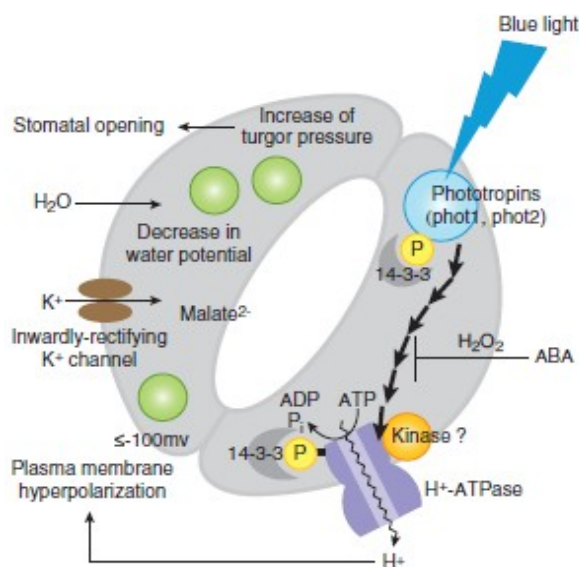
Fig.8. Struttura proteica di PHOT1 e PHOT2 di *Arabidopsis* (da Briggs & Christie, 2002).

Lo stimolo luminoso viene percepito nel dominio LOV e il segnale viene in seguito trasdotto al dominio chinasi che si attiva portando alla autofosforilazione della molecola in più siti e innescando poi la trasduzione del segnale (Kimura & Kagawa, 2006). La loro scoperta si deve ad esperimenti condotti su mutanti *cry* di *Arabidopsis* i quali, pur mancando di entrambi i criptocromi, presentavano fototropismo che era noto essere mediato dalla luce blu.

Finora sono state identificate due fototropine: PHOT1 e PHOT2 (Christie *et al.*,

1998; Jarillo *et al.*, 1998). Entrambe svolgono ruoli fondamentali nella regolazione dello sviluppo delle piante quali: fototropismo (crescita direzionale in risposta alla luce monodirezionale), apertura degli stomi all'alba (Fig. 9) ed espansione fogliare (Jarillo *et al.*, 2001; Sakai *et al.*, 2001; Sakamoto & Briggs, 2002). Le fototropine sono anche coinvolte nell'accumulo dei cloroplasti in risposta ad una bassa intensità luminosa, ma solo PHOT2 media i movimenti di evitazione di questi organelli in caso di luce forte. Secondo uno studio recente, sembrerebbe che PHOT1 (e in misura minore PHOT2) sia coinvolta nella crescita della pianta in presenza di una bassa intensità di luce blu ( $0,1\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), che si traduce in una pronunciata espansione fogliare e nell'aumento della biomassa (Takemiya *et al.*, 2005). Queste risposte, infatti, sono attenuate in mutanti mancanti di *PHOT1* o nei doppi mutanti *phot1phot2*. L'incremento della biomassa si spiega considerando che l'apertura degli stomi e la distribuzione dei cloroplasti, tale da sfruttare le radiazioni luminose (senza essere danneggiati), portano ad un incremento della fotosintesi che si traduce in un aumento di fissazione della  $\text{CO}_2$ .

La luce blu captata dalle fototropine ha un effetto diretto sulle cellule di guardia degli



stomi: stimola infatti l'attività delle pompe protoniche che, estrudendo  $\text{H}^+$ , iperpolarizzano la membrana cellulare favorendo l'entrata di potassio e di un equivalente osmotico di acqua. L'aumento di turgore delle cellule si traduce così nell'apertura degli stomi (Fig. 9). In questo caso, la luce blu agisce all'alba come un segnale che prepara le piante a condurre la fotosintesi: l'apertura stomatica, infatti, viene indotta prima del sorgere del sole, quando la luce blu è già presente nello spettro in proporzioni tali da essere percepita dalle fototropine.

Fig.9. Processo di apertura stomatica mediato dalle fototropine in risposta alla luce blu (da Shimazaki *et al.*, 2007).

### 3. LA LUCE NELLA TRANSIZIONE FIOREALE

Il passaggio dalla fase vegetativa a quella riproduttiva comporta una riorganizzazione complessa del meristema apicale per cui si osserva una transizione da meristema "a foglie" a meristema fiorale. Da quest'ultimo si sviluppa il fiore, costituito da un numero fissato di organi inseriti in modo spiraleto o in verticilli concentrici su un asse più o meno modificato, il ricettacolo. Questi organi si suddividono in sterili e fertili: i primi, sepal e petali, formano il calice e la corolla; i secondi, stami e pistilli, costituiscono gli elementi riproduttivi maschili e femminili. La transizione fiorale è in parte dovuta alla percezione dei segnali ambientali e in parte a segnali endogeni. In *Arabidopsis* sono state identificate quattro vie coinvolte nel controllo della fioritura: la

via autonoma, la via del fotoperiodo, quella dipendente dalla vernalizzazione e quella delle gibberelline. Quest'ultima comporta ancora una volta l'interazione tra le GA e le proteine DELLA. Tutte le vie convergono nella regolazione dell'espressione di un numero ristretto di geni bersaglio denominati "integratori fiorali" tra cui *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF COSTANS1 (SOC1)*, *LEAFY (LFY)*, *APETALA (API)* (Altamura *et al.*, 2007).

### **3.1 LA VIA DEL FOTOPERIODO**

Il controllo della fioritura mediato dal fotoperiodo dipende dall'interazione tra due tipi di meccanismi di percezione che coinvolgono i fotorecettori (percezione della luce) e **l'orologio circadiano** (percezione del tempo). Quest'ultimo regola molti processi tra cui il movimento delle foglie, l'espressione di diversi geni e l'apertura degli stomi, attraverso la creazione di segnali endogeni.

Il ritmo circadiano, che consta di una fase di giorno soggettivo e una di notte soggettiva (rispettivamente fotofila e scotofila), è indipendente dall'ambiente e non dura esattamente 24 ore. Ne consegue che i diversi processi controllati si sfaserebbero se non ci fosse un meccanismo di sincronizzazione dell'orologio con l'ambiente. Questo avviene ad opera dei criptocromi e fitocromi, che captano la quantità e la qualità della luce. Ogni orologio circadiano, quindi, si può sincronizzare sulla base delle condizioni esterne, consentendo alle piante di percepire le variazioni di luminosità e di durata della luce e di coordinare un processo fisiologico con la stagione più opportuna (Altamura *et al.*, 2007).

Lo stimolo fotoperiodico induttivo, percepito dalle foglie, viene traslocato ai meristemi apicali. È stato dimostrato che è sufficiente una sola foglia fotoindotta innestata in una pianta che non lo è per innescare il processo della fioritura.

In base al fotoperiodo richiesto per l'induzione a fiore, le piante si distinguono in **longidiurne (LDP)**, **brevidiurne (SDP)** e **neutrodiurne (NDP)**. Le prime, fioriscono solamente dopo essere state sottoposte a giorni lunghi (16h) e notti corte (8h), viceversa per le seconde. Le neutrodiurne, invece, fioriscono indipendentemente dal fotoperiodo: sono generalmente piante originarie di ambienti tropicali in cui non vi è differenza tra le ore di luce e buio nei diversi periodi dell'anno.

In realtà, le piante fotoperiodiche non percepiscono la lunghezza del giorno, ma piuttosto quella della notte. Infatti, ponendo le piante longidiurne in condizioni sperimentali che simulano i giorni corti, l'interruzione della notte con un flash di luce R (night break) porta alla fioritura.

Grazie a questi esperimenti di *night break* si è potuto stabilire il coinvolgimento del fitocromo come principale recettore del fotoperiodismo. Infatti, l'interruzione della lunga notte con un flash di luce R porta il PHY nella conformazione Pfr e ha come conseguenza la fioritura delle LDP, ma non quella delle SDP. Va inoltre sottolineato il fatto che l'interruzione della notte ha diversi effetti sulla fioritura in base al momento in cui viene somministrata la luce R. La fioritura viene indotta nelle LDP solo se l'esposizione alla luce interrompe la notte durante la fase fotofila del ritmo circadiano, mentre le SDP fioriscono quando la fase fotofila è già terminata ed è in atto la fase di insensibilità al segnale ambientale.

In base a quello che viene definito il “**modello di coincidenza**”, quindi, sia nelle LDP, sia nelle SDP l’induzione a fiore si verifica solo se l’esposizione alla luce coincide con la fase appropriata del ritmo circadiano (Fig. 10).

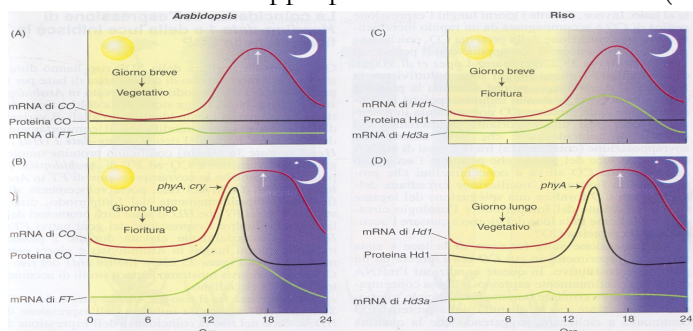


Fig. 10. Basi molecolari del modello di coincidenza in *Arabidopsis* (LD) e *riso* (SD) (Da Hayama & Coupland, 2004).

Il modello di coincidenza risulta chiaro se si considerano le diverse vie di regolazione della fioritura nelle piante LD o SD.

Analisi genetiche condotte su *Arabidopsis*, una pianta longigiurna, hanno rivelato il ruolo fondamentale del gene **COSTANS** (*CO*) come attivatore della fioritura (Altamura *et al.*, 2007). *COSTANS* codifica per un fattore di trascrizione avente un motivo a “zinc finger” che si lega al gene *FT* attivandolo. Piante transgeniche che esprimono *COSTANS* in modo costitutivo fioriscono indipendentemente dal fotoperiodo. Tuttavia, se è contemporaneamente presente il gene *FT* mutato, le piante non sono in grado di fiorire precocemente: questo dimostra che *FT* agisce a valle di *CO*. Recentemente è stato dimostrato che il livello del trascritto di *CO* è massimo circa 16 ore dopo l'alba e basso di mattina e dipende quindi dal fotoperiodo. Tuttavia, solo durante i giorni lunghi l'espressione è accompagnata ad un aumento del livello della proteina *CO*. La luce (percepita dai *PHYA* e *CRY*), infatti, stimola la stabilità di *CO*, permettendo che si accumuli ad una concentrazione tale da indurre la fioritura. Pertanto, quando il picco dell'mRNA di *CO* coincide con lo stimolo luminoso, la pianta fiorisce (Fig. 10). Questo dimostra l'interazione tra un segnale esterno (luce) e un segnale interno (*CO*) controllato dall'orologio circadiano

E' stato dimostrato che il modello di coincidenza di base per la percezione del fotoperiodo è conservato anche in riso, una SDP. In essa sono presenti i geni **Heading-date 1** (*Hd1*) e **Heading-date 3a** (*Hd3a*), codificanti per proteine omologhe rispettivamente a *CO* ed *FT* di *Arabidopsis*. La differenza tra riso e *Arabidopsis* è che nel primo *Hd1* agisce come inibitore dell'espressione del gene *Hd3a*: quindi, quando lo stimolo luminoso coincide con il picco di mRNA di *Hd1*, la fioritura viene inibita (Izawa *et al.* 2003; Hayama & Coupland 2004) (Fig.10).

Studi recenti hanno dimostrato che i geni coinvolti nella fioritura sono espressi a livello delle cellule del floema della foglia, dove viene percepito e trasdotto il segnale luminoso. Successivamente, attraverso i tubi cribrosi, i prodotti proteici raggiungono il meristema del germoglio, inducendo la sua riorganizzazione. Questo richiama l'ipotesi fatta nel 1937 da Chailakhyan, che aveva proposto l'esistenza di un “ormone florigeno”, una molecola ignota prodotta dalle foglie e traslocata in condizioni ambientali opportune nel meristema apicale .

In alcune piante (ad esempio, le piante biennali), lo stimolo fotoperiodico non è sufficiente ad indurre la fioritura, ma deve essere preceduto dall'esposizione a basse temperature (0-10°C) per un periodo che dipende dalla specie. Questa necessità di freddo viene definita “**vernalizzazione**” ed è importante per conferire ai meristemi di queste piante la competenza per la transizione a meristema florale una volta percepito lo stimolo fotoperiodico (Altamura *et al.*, 2007).

#### 4. LA LUCE VERDE COME SEGNALE MORFOGENETICO

Come scritto in precedenza, recenti evidenze hanno mostrato che anche lunghezze d'onda corrispondenti al verde sono un segnale biologicamente attivo per le piante e forniscono informazioni che portano a discrete risposte morfogenetiche e funzionali. La luce verde, ad esempio, interviene nella regolazione dello sviluppo vegetativo, ma anche nella fioritura fotoperiodica, nell'espressione dei geni correlati con la fotosintesi e nei movimenti stomatici. In genere, la luce verde gioca un ruolo opposto rispetto alla luce rossa e a quella UV-A/Blu. Ciò rientra nei meccanismi frequenti in biologia di utilizzare sistemi opposti per monitorare, aggiustare e definire sottilmente i programmi di sviluppo. È stato dimostrato, ad esempio, come la luce verde possa contrastare l'effetto della luce blu nel meccanismo di apertura degli stomi. In particolare, esperimenti condotti in *Vicia faba* hanno rivelato come questo fenomeno sia reversibile e dipenda dalla qualità dell'ultimo impulso luminoso (Frechilla *et al.*, 2000): se blu, gli stomi rimangono aperti, se verde, gli stomi si chiudono. Gli autori hanno inoltre mostrato come l'effetto sia dose dipendente, dal momento che è richiesta una quantità doppia di luce verde rispetto alla luce blu (Talbot *et al.*, 2002). In molti casi le risposte innescate dalla luce verde sono mediate da fitocromi e criptocromi che possono, anche se in minima parte, assorbire queste lunghezze d'onda. Ad esempio, è noto che la stimolazione della crescita dell'ipocotile è un effetto della luce verde criptocromo-dipendente. Germogli eziolati, cresciuti al buio, accumulano il criptocromo con il FAD nella forma completamente ossidata, inattiva e stabile. Esposti alla luce, l'assorbimento di lunghezze d'onda corrispondenti al blu converte il FAD nella forma semi-ridotta in seguito al trasferimento di un elettrone da un residuo conservato di tirosina o triptofano sul FAD (Giovani *et al.*, 2003). Questa forma è attiva ed è in grado di assorbire la luce verde che, a sua volta, riduce completamente il cromoforo e lo inattiva (Bouly *et al.*, 2007). Il criptocromo, attivato, porta all'inibizione della crescita dell'ipocotile, per cui si osserva un picco massimo di attività a 450nm (Ahmad *et al.*, 2002). Al contrario, l'assorbimento della luce verde (563nm) da parte del FAD semi-ridotto contrasta gli effetti della luce blu nei germogli, promuovendone la crescita. Considerato il fatto che al di sotto di una copertura vegetale aumenta la quantità di luce verde (trasmessa o riflessa dalle foglie), alle risposte di allungamento innescate dalla riduzione della luce blu, si aggiungono quelle causate dall'assorbimento delle  $\lambda$  nel verde (Franklin, 2008).

Esistono però risposte delle piante al verde che non possono essere ascritte alla mediazione dei criptocromi e dei fitocromi, suggerendo il coinvolgimento di un sistema sensorio addizionale in grado di percepire la luce verde e mediarne gli effetti sulla fotomorfogenesi. Una decina di anni fa Tanada (1997), basandosi su evidenze sperimentali, propose l'esistenza di un recettore che chiamò "eliocromo". Secondo l'ipotesi di Tanada questo recettore conteneva un gruppo eme, aveva una reversibilità FR/verde e nella forma assorbente il FR era anche sensibile al blu. A tutt'oggi però l'eliocromo non è stato individuato nelle piante.





## BIBLIOGRAFIA

**Ahmad M., Grancher N., Heil M., Black RC., Giovani B., Galland P., Lardemer D. 2002.** Action spectrum for cryptochrome-dependent hypocotyl growth inhibition in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **129**: 774–785.

**Altamura MM., Biondi S., Colombo L., Guzzo F. 2007.** *Elementi di biologia dello sviluppo delle piante*. EdiSES, pp 195.

**Aukerman M.J., Hirschfeld M., Wester L., Weaver M., Clack T., Amasino R.M., Sharrock RA. 1997.** A deletion in the *PHYD* gene of the *Arabidopsis* Wassilewskija ecotype defines a role for phytochrome D in red/far-red light sensing. *The Plant Cell* **9**: 1317–132

**Bae G., Choi G., 2008.** Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 281-311.

**Ballaré C.L., Casal J.J., Kendrick R.E. 1991a.** Responses of light-grown wild-type and long-hypocotyl mutant cucumber seedlings to natural and stimulated shade light. *Photochemistry and Photobiology* **54**: 819–826.

**Ballaré C.L., Sánchez R.A., Scopel A.L., Casal J.J., Ghersa C.M. 1987.** Early detection of neighbour plants by phytochrome perception of spectral changes in reflected sunlight. *Plant, Cell & Environment* **10**: 551–557.

**Ballaré C.L., Scopel A.L., Sánchez R.A. 1991b.** Photocontrol of stem elongation in plant neighbourhoods: effects of photon fluence rate under natural conditions of radiation. *Plant, Cell & Environment* **14**: 57–65.

**Boardman N.K. 1977.** Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology* **28**: 355–377.

**Bouly J.P., Schleicher E., Dionisio-Sese M. 2007.** Cryptochrome blue-light photoreceptors are activated through interconversion of flavin redox states. *Journal of Biological Chemistry* **282**: 9383-9381.

**Briggs W.R., Christie J.M. 2002.** Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends in Plant Science* **7**: 204-210.

**Castillon A., Shen H., Hug E. 2007.** Phytochrome interacting factors: central player in phytochrome-mediated light signalling networks. *Trends in Plant Science* **12**: 514-521.

**Chen M. 2008.** Phytochrome nuclear body: an emerging model to study interphase nuclear dynamics and signalling. *Current Opinion in Plant Biology* **11**: 503-508.

**Christie J.M., Reymond P., Powell G.K., Bernasconi P., Raibekas A.A., Liscum E., Briggs W.R. 1998.** *Arabidopsis* NPH1: a flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science* **282**: 1698–1701.

- Clack T., Mathews S., Sharrock R.A. 1994.** The phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis* is encoded by five genes: the sequences and expression of *PHYD* and *PHYE*. *Plant Molecular Biology* **25**: 413–427.
- De Lucas M., Davière J.M., Rodríguez-Falcón M., Pontin M., Iglesias-Pedraz J.M., Lorrain S., Fankhauser C., Blázquez M.A., Titarenko E., Prat S. 2008.** A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature* **451**: 480–486.
- Devlin P.F., Patel, S.R., Whitelam G.C. 1998.** Phytochrome E influences internode elongation and flowering time in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **10**: 1479–1487.
- Devlin P.F., Robson P.R.H., Patel S.R., Goosey L., Sharrock R.A., Whitelam G.C. 1999.** Phytochrome D acts in the shade-avoidance syndrome in *Arabidopsis* by controlling elongation and flowering time. *Plant Physiology* **119**: 909–915.
- Dill A., Thomas S.G., Hu J., Steber C.M., Sun T.P. 2004.** The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signalling repressors for gibberellin-induced degradation. *The Plant Cell* **16**: 1392–1405.
- Djakovic-Petrovic T., de Wit M., Voeselek L.A.C.J, Pierik R. 2007.** DELLA protein function in growth responses to canopy signals. *Plant Journal* **51**: 117–126.
- Donohue K., Pyle E.H., Messiqua D., Heschel M.S., Schmitt J. 2001.** Adaptive divergence in plasticity in natural populations of *Impatiens capensis* and its consequences for performance in novel habitats. *Evolution* **55**: 692–702.
- Dudley S.A., Schmitt J. 1995.** Genetic differentiation in morphological responses to simulated foliage shade between populations of *Impatiens capensis* from open and woodland sites. *Functional Ecology* **9**: 655–666.
- Duek P.D., Fankhauser C. 2005.** bHLH class transcription factors take centre stage in phytochrome signalling. *Trends in Plant Science* **10**: 51-54.
- Fankhauser C., Chen M. 2008.** Transposing phytochrome into the nucleus. *Trends in Plant Science* **13**: 596-601.
- Feng S., Martinez C., Gusmaroli G., Wang Y., Zhou J., Wang F., Chen L., Yu L., Iglesias-Pedraz J.M., Kircher S., et al. 2008.** Coordinated regulation of *Arabidopsis thaliana* development by light and gibberellins. *Nature* **451**: 475–480.
- Folta K.M., Maruhnich S.A. 2007.** Green light: a signal to slow down or stop. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3099-3111.
- Franklin K.A. 2008.** Shade avoidance. *New Phytologist* **179**: 930-944.
- Frechilla S., Talbott L.D., Bogomolni R.A., Zeiger E. 2000.** Reversal of blue light-stimulated stomatal opening by green light. *Plant Cell Physiology* **41**: 171–176.
- Giovani B., Byrdin M., Ahmad M., Brettel K. 2003.** Light-induced electron transfer in a cryptochrome blue-light photoreceptor. *Nature Structural Biology* **10**: 489–

490.

**Halliday K.J., Koornneef M., Whitelam G.C. 1994.** Phytochrome B and at least one other phytochrome mediate the accelerated flowering response of *Arabidopsis thaliana* L. to low red/far-red ratio. *Plant Physiology* **104**: 1311–1315.

**Hayama R., Coupland G. 2004.** The molecular basis of diversity in the photoperiodic flowering responses of *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiology* **135**: 677–684.

**Holmes M.G., Smith H. 1977.** The function of phytochrome in the natural environment. II. The influence of vegetation canopies on the spectral energy distribution of natural daylight. *Photochemistry and Photobiology* **25**: 539–545.

**Huq E., Quail P.H. 2002.** PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor functions as a negative regulator of phytochrome B signalling in *Arabidopsis*. *The EMBO Journal* **21**: 2441–2450.

**Izawa T., Takahashi Y., Yano M. 2003.** Comparative biology comes into bloom: genomic and genetic comparison of flowering pathway in rice and *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology* **6**: 133–120.

**Jarillo J.A., Ahmad M., Cashmore A.R. 1998.** NPL1: a second member of the NPH serine/threonine kinase family of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **117**: 719.

**Jarillo J.A., Gabrys H., Capel J., Alonso J.M., Eker J.R., Cashmore A.R. 2001.** Phototropin-related NPL1 controls chloroplast relocation induced by blue light. *Nature* **410**: 592–594.

**Jiao Y., Lan O. S., Deng X. W., 2007.** Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Review Genetics* **8**: 217–230.

**Kevei E., Schafer E., Nagy F. 2007.** Light-regulated nucleo-cytoplasmic partitioning of phytochromes. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3113–3124.

**Khanna R., Huq E., Kikis E.A., Al-Sady B., Lanzatella C., Quail P.H. 2004.** A novel molecular recognition motif necessary for targeting photoactivated phytochrome signalling to specific basic helix-loop-helix transcription factors. *The Plant Cell* **16**: 3033–3044.

**Kimura M., Kagawa T. 2006.** Phototropin and light-signalling in phototropism. *Current Opinion in Plant Biology* **9**: 1–6.

**Kircher S., Gil P., Kozma-Bagnar L., Fejes E., Speth V., Husselstein-Muller T., Bauer D., Adam E., Schafer E., Nagy F. 2002.** Nucleocytoplasmic partitioning of the plant photoreceptors phytochrome A, B, C, D and E is regulated differentially by light and exhibits a diurnal rhythm. *The Plant Cell* **14**: 1541–1555.

**Klar T., Pokorny R., Moldt J., Batschauer A., Essen LO. 2007.** Cryptochrome 3 from *Arabidopsis thaliana*: structural and functional analysis of its complex with a folate light antenna. *Journal of Molecular Biology* **366**: 954–964.

- Lin C., Robertson D.E., Ahmad M., Raibekas A.A., Jorns M.S., Dutton P.L., Cashmore A.R. 1995b.** Association of flavin adenine dinucleotide with the *Arabidopsis* blue light receptor CRY1. *Science* **269**: 968–970.
- Lin C., Shalitin M. 2003.** Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* **54**: 469–496.
- Lin C., Yang H., Guo H., Mockler T., Chen J., Cashmore A.R. 1998.** Enhancement of blue light sensitivity of *Arabidopsis* seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **95**: 7686–7699.
- López-Juez E., Buurmeijer W.F., Heeringa G.H., Kendrick R.E., Wesselius J.C. 1990.** Response of light-grown wild-type and long hypocotyl mutant cucumber plants to end-of-day far-red light. *Photochemistry and Photobiology* **52**: 143–149.
- Lorrain S., Allen T., Duek P.D., Whitelam G.C., Fankhauser C. 2008.** Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. *Plant Journal* **53**: 312–323.
- Malhotra K., Kim S.T., Batschauer A., Dawut L., Sancar A. 1995.** Putative blue-light photoreceptors from *Arabidopsis thaliana* and *Sinapis alba* with a high degree of sequence homology to DNA photolyase contain the two photolyase cofactors but lack DNA repair activity. *Biochemistry* **34**: 6892–6899.
- Mazzella M.A., Cerdán P.D., Staneloni R.J., Casal J.J. 2001.** Hierarchical coupling of phytochromes and cryptochromes reconciles stability and light modulation of *Arabidopsis* development. *Development* **128**: 2291–2299.
- McGinnis K.M., Thomas S.G., Soule J.D., Strader L.C., Zale J.M., Sun T.P., Steber C.M. 2003.** The *Arabidopsis* *SLEEPY1* gene encodes a putative F-box subunit of an SCF E3 ubiquitin ligase. *The Plant Cell* **15**: 1120–1130.
- Middleton L. 2001.** Shade-tolerant flowering plants: adaptations and horticultural implications. *Acta Horticulturae (ISHS)* **552**: 95–102.
- Monte E., Al-Sady B., Leivar P., Quail P.H. 2007.** Out of the dark: how the PIFs are unmasking a dual temporal mechanism of phytochrome signalling. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3125–3133.
- Morgan D.C., Smith H. 1979.** A systematic relationship between phytochrome-controlled development and species habitat, for plants grown in simulated natural irradiation. *Planta* **145**: 253–258.
- Nagatani A., Chory J., Furuya M. 1991.** Phytochrome B is not detectable in the *hy3* mutant of *Arabidopsis*, which is deficient in responding to end-of-day far-red light treatments. *Plant and Cell Physiology* **32**: 1119–112.
- Ni M., Tepperman J.M., Quail P.H. 1998.** PIF3, a phytochrome-interacting factor necessary for normal photoinduced signal transduction, is a novel basic helix-loop-helix protein. *Cell* **95**: 657–667.



- Ni M., Tepperman J.M., Quail P.H. 1999.** Binding of phytochrome B to its nuclear signalling partner PIF3 is reversibly induced by light. *Nature* **400**: 462–466.
- Pierik R., Cuppens M.L.C., Voesenek L.A.C.J., Visser E.J.W. 2004b.** Interactions between ethylene and gibberellins in phytochrome-mediated shade avoidance responses in tobacco. *Plant Physiology* **136**: 2928–2936.
- Pupillo P., Cervone F., Cresti M., Rascio N. 2003.** *Biologia vegetale*. Zanichelli, pp 482
- Sakai T., Kagawa T., Kasahara M., Swartz T.E., Christie J.M., Briggs W.R., Wada M., Okada K. 2001.** *Arabidopsis* *nph1* and *npl1*: blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **98**: 6969–6974.
- Sakamoto K., Briggs W.R. 2002.** Cellular and subcellular localization of phototropin 1. *The Plant Cell* **14**: 1723–1735.
- Sharrock R.A., Quail P.H. 1989.** Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes and Development* **3**: 1745–1757.
- Shen Y., Khanna R., Carle C.M., Quail P.H. 2007.** Phytochrome induces rapid PIF5 phosphorylation and degradation in response to red-light activation. *Plant Physiology* **145**: 1043–1051.
- Shimazaki K., Doi M., Assmann S.M., Kinoshita T. 2007.** Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology* **58**: 219–47
- Smith H., Whitelam G.C. 1997.** The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell & Environment* **20**: 840–844.
- Somers D.E., Sharrock R.A., Tepperman J.M., Quail P.H. 1991.** The *hy3* long hypocotyl mutant of *Arabidopsis* is deficient in phytochrome B. *The Plant Cell* **3**: 1263–1274.
- Spalding E.P. 2000.** Ion channels and the transduction of light signals. *Plant, Cell & Environment* **23**: 665–674.
- Taiz L., Zeiger E. 2009.** *Fisiologia vegetale* (3ª edizione italiana) Piccin, pp 1014
- Takemiya A., Inoue S., Doi M., Kinoshita T., Shimazaki K. 2005.** Phototropins promote plant growth in response to blue light in low light environments. *The Plant Cell* **17**: 1120–1127.
- Talbott L.D., Nikolova G., Ortiz A., Shmayevich I., Zeiger E. 2002.** Green light reversal of blue-light-stimulated stomatal opening is found in a diversity of plant species. *American Journal of Botany* **89**: 366–368.
- Tanada T. 1997.** The photoreceptors in the high irradiance response of plants. *Physiologia Plantarum* **101**: 451–454.





