

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



IRRADIACIÓN UV-B Y UV-C DE SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*  
L.) Y EFECTO SOBRE GERMINACIÓN, VIGOR Y CRECIMIENTO.

Tesis

Que como requisito para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

CARLOS EDUARDO DÍAZ LEYVA

Saltillo, Coahuila

Julio 2016

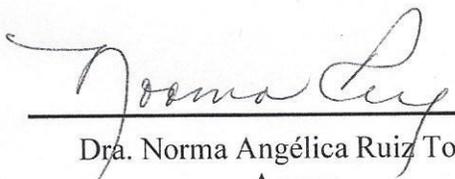
IRRADIACIÓN UV-B Y UV-C DE SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*  
L.) Y EFECTO SOBRE GERMINACIÓN, VIGOR Y CRECIMIENTO.

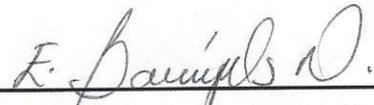
Tesis

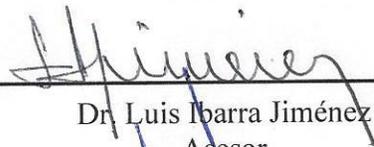
Elaborada por CARLOS EDUARDO DÍAZ LEYVA como requisito parcial para  
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la  
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

---

Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Asesor Principal

  
Dra. Norma Angélica Ruiz Torres  
Asesor

  
Dra. Elly Bacópulos Mejía  
Asesor

  
Dr. Luis Barra Jiménez  
Asesor

  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Subdirector de Postgrado  
UAAAN

## Agradecimientos

Al asesor principal, Dr. Adalberto Benavides Mendoza por su apoyo, asesoría, revisión y monitoreo de este trabajo.

A mis coasesores; Elly Bacopulos Mejía, Luis Ibarra Jiménez, Norma Angélica Ruiz Torres por su colaboración y oportunos consejos.

A mis amigos del postgrado, Raquel, Martín, Refugio y Paola por su compañía en el caminar de esta etapa de mi vida, cada uno me dejó enseñanzas valiosas, hizo mi estancia placentera y a mí un mejor ser humano.

También agradecido con mis amigos Adán Estrada, Juan Bernardo, Clara Sánchez Marcos Juan, Candy Pacheco, Everildo José por su desinteresada amistad, consejos y apoyo incondicional.

Muy agradecido de igual manera a personas como Martina Casillas y Erika Solís por su paciencia y apoyo a lo largo de estos dos años.

Al CONACYT por permitirme realizar estudios de postgrado.

## Dedicatoria

A mis padres, Antonio Díaz Cota y Josefina Leyva Mérida, por su apoyo incondicional, paciencia, comprensión y completo respaldo en los proyectos de mi vida, estuve, estoy y estaré eternamente agradecido padres míos, en momentos de dificultades son ustedes junto a mis hermanos quien me dan la fuerza para salir adelante y vencer lo que se me ponga en frente, los quiero mucho.

A mis hermanos, Elder Osvaldo y Alma Yareli, que son mis amigos incondicionales, aprendo de ustedes día a día, no pude haber tenido mejores hermanos, estoy orgulloso y me siento privilegiado el ser hermano suyo.

## Índice General

Índice de figuras.....	vi
Índice de cuadros.....	viii
Resumen.....	ix
Abstract.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Radiación UV-B en la naturaleza y factores que modifican su presencia en los ecosistemas. ..	5
Absorción, percepción y señalización de la radiación UV-B en las plantas. ....	6
Efectos reportados de la radiación UV-B en las plantas. ....	10
Modificación del metabolismo antioxidante por la exposición a la radiación UV: componente enzimático.....	11
Modificación del metabolismo antioxidante por la exposición a la radiación UV: componente no enzimático. ....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
Respuestas de germinación y vigor frente a la irradiación UV-B.....	18
Respuestas de germinación y vigor frente a la irradiación UV-C.....	22
Respuestas de las plantas obtenidas de las semillas irradiadas con UV-B y UV-C.....	25
CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS.....	34

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Ilustración esquemática de la percepción de la UV-B, señalización y respuestas en Arabidopsis. ....	7
<b>Figura 2.</b> Fotociclo del UVR8.....	9
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de semillas de tomate germinadas en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla. ....	20
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de plántulas normales de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla. ....	20
<b>Figura 5.</b> Longitud de raíz de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla. ....	21
<b>Figura 6.</b> Longitud de hipocótilo de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla. ....	21
<b>Figura 7.</b> Peso seco de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla. ....	21
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de semillas germinadas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla. ....	23
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de plántulas normales de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla. ....	24
<b>Figura 10.</b> Longitud de hipocótilo de plántulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla. ....	24
<b>Figura 11.</b> Longitud de raíz de plántulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla. ....	24
<b>Figura 12.</b> Peso seco de plántulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla. ....	25
<b>Figura 13.</b> Altura de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla. ....	28
<b>Figura 14.</b> Diámetro de tallo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla. ....	28
<b>Figura 15.</b> Desnidad estomática del haz de hojas de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	28
<b>Figura 16.</b> Desnidad estomática del envés de hojas de plantas en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla. ....	29

<b>Figura 17.</b> Peso fresco de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	29
<b>Figura 18.</b> Peso seco de plantas de tomate en relacion a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	29
<b>Figura 19.</b> Unidades SPAD de hojas de plantas de tomate en relación a la anergía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	30
<b>Figura 20.</b> Acumulación de potasio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Figura 21.</b> Acumulación de magnesio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	31
<b>Figura 22.</b> Acumulación de calcio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	32
<b>Figura 23.</b> Acumulación de sodio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.....	32

## Lista de Cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos utilizados en la primera etapa .....	14
<b>Cuadro 2.</b> Tratamientos utilizados en la segunda etapa.....	15
<b>Cuadro 1.</b> Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la primera etapa del experimento (UV-B).....	18
<b>Tabla 2.</b> Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la primera etapa del experimento (UV-C). ....	22
<b>Tabla 3.</b> Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la segunda etapa del experimento (UV-B y UV-C). ....	25
<b>Tabla 4.</b> Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la segunda etapa del experimento (UV-B y UV-C). ....	27

## Resumen

La radiación UV-B y UV-C modifica el metabolismo y morfología de las plantas. Bajo la hipótesis de que la irradiación de las semillas con UV-B y UV-C cambia no solamente el comportamiento germinativo sino la morfología de las plantas se realizó este estudio con el objetivo de evaluar si la irradiación de las semillas induce cambios en la germinación, vigor y variables morfológicas de la epidermis foliar de plantas de tomate. En una primera etapa experimental las semillas fueron irradiadas y se les verificó la germinación y vigor en el laboratorio con el propósito de determinar las dosis más efectivas para inducir cambios. Para UV-B se aplicaron ocho dosis de energía desde 0 (testigo) hasta  $32.4 \text{ kJ m}^{-2}$ . Para UV-C se aplicaron ocho dosis de energía desde 0 (testigo) hasta  $16.2 \text{ kJ m}^{-2}$ . La irradiación con UV-B a  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$  aumentó los números de plántulas normales y semillas germinadas. La irradiación con UV-C causó efectos negativos en semillas germinadas y plántulas normales. Para la segunda etapa se utilizaron  $1.8$ ,  $5.4$  y  $10.8 \text{ kJ m}^{-2}$  para UV-B y  $0.9$  y  $2.7 \text{ kJ m}^{-2}$  de UV-C para irradiar las semillas. Estas se sembraron en macetas bajo invernadero y las plantas obtenidas se llevaron hasta floración. Todos los tratamientos incrementaron la densidad estomática en las plantas, además de que las dosis de  $5.4$  y  $10.8$  de UV-B disminuyeron las unidades SPAD. Se concluyó que la irradiación de la semilla es útil para el pretratamiento de las mismas y la modificación fenotípica de las plantas.

**Palabras clave:** Priming; pretratamiento de las semillas; inducción de tolerancia; estrés.

## **Abstract**

UV-B and UV-C radiation modify the metabolism and morphology of plants. Under the hypothesis that irradiation of seeds with UV-B and UV-C alters not only the germination performance but the plants morphology, this study was conducted to assess whether the irradiation of seeds induces changes in germination, vigor, and morphology of leaf epidermis of tomato plants. In the first experimental stage, the seeds were irradiated and afterward the germination and vigor were verified in the laboratory to determine the most efficient doses for inducing changes. For UV-B, eight doses of energy were applied from 0 (control) to 32.4 kJ m<sup>-2</sup>. For UV-C, eight doses of energy were used from 0 (control) to 16.2 kJ m<sup>-2</sup>. Irradiation with 5.4 kJ m<sup>-2</sup> of UV-B increased the numbers of normal seedlings and germinated seeds. Irradiation with UV-C caused adverse effects on germinated seeds and normal seedlings. For the second stage, the seeds were irradiated with 1.8, 5.4 and 10.8 kJ m<sup>-2</sup> of UV-B and 0.9 and 2.7 kJ m<sup>-2</sup> of UV-C, and the plants were brought to flowering. All treatments increased stomatal density in plants. Also, the 5.4 and 10.8 doses of UV-B decreased SPAD units. It was concluded that irradiating the seed is useful as pretreatment and for phenotypic modification of plants.

**Keywords:** Priming, seeds pretreatment, tolerance induction, stress.

## INTRODUCCIÓN

La radiación solar es un factor clave para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y acuáticos a través del control de procesos fotobiológicos, factores ambientales y ciclos naturales (Carrasco-Río, 2009; Bornman *et al.*, 2015). Dentro del espectro electromagnético que alcanza la superficie terrestre se encuentra la radiación UV (200-400 nm), PAR (400-700 nm), visible (400-780 nm) e infrarroja cercana (800-2500 nm) (Troy and Thennadil, 2001).

Las plantas utilizan la radiación como información para ajustar su crecimiento y desarrollo (Kami *et al.*, 2010). De un 7 a 9% del total de radiación en la superficie terrestre, está en el rango UV (Coohill 1989; Frohnmeyer y Staiger 2003). Esta cantidad ha aumentado debido a cambios en la capa de ozono de la estratósfera (Hollosy, 2002).

Por convención, el espectro UV se ha dividido en tres componentes: UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) Y UV-C (200-280 nm) (Carrasco-Río, 2009). Toda la UV-A atraviesa la atmósfera y alcanza la superficie terrestre (Nawkar *et al.*, 2013); la radiación UVB es absorbida en su mayor parte por la capa de ozono atmosférica, por lo tanto solo una pequeña cantidad de ella alcanza la superficie terrestre. Del total de radiación en la superficie terrestre, la UV-B contabiliza solamente el 1.5% (Nawkar *et al.*, 2013). La radiación UV-C es totalmente absorbida por el ozono atmosférico, por ello no se encuentra de forma natural en los ecosistemas (Nawkar *et al.*, 2013).

Las plantas cuentan con receptores especializados para poder captar los estímulos del espectro electromagnético. Para ello utilizan proteínas sensoras para crear una conexión entre el estímulo ambiental y las respuestas fisiológicas como el rompimiento de la latencia, la velocidad de germinación y las respuestas post-germinativas del embrión, permitiendo que las señales ambientales sean colectadas y procesadas inclusive por las semillas aparentemente inactivas que forman parte de un banco de semillas o de germoplasma. Este proceso de percepción y señalización de la radiación electromagnética por parte de una semilla parece estar mediado por diferentes receptores como los fitocromos (Magliano y Casal, 2004), y es muy importante desde el punto de vista de la oportunidad y capacidad de supervivencia del embrión una vez que la semilla germina (Long *et al.*, 2015). En el caso particular de la radiación UV-B el fotoreceptor

es llamado UVR8 (Kami *et al.*, 2010; Heijde and Ulm, 2012), tratándose de una proteína con siete hélices y de 440 aminoácidos (Wu *et al.*, 2012). Algunos efectos provocados por la radiación UV-B son: inhibición del crecimiento del hipocótilo, alteraciones en los metabolitos secundarios y vitaminas (Kusano *et al.*, 2011; Morales *et al.*, 2013), diferenciación y regulación estomática (Wargent *et al.*, 2009), ajustes en la eficiencia fotosintética (Davey *et al.*, 2012; Takahashi *et al.*, 2010), resistencia a los patógenos (Demkura *et al.*, 2012) y fototropismos (Shinkle *et al.*, 2004). Asimismo se han reportado ajustes morfogénéticos como cambios en la orientación de las hojas y tallos, así como plantas con dosel compacto con entrenudos más cortos (Searles *et al.*, 1995).

A diferencia de la radiación UV-B, hasta el momento no se ha encontrado un receptor específico para la radiación UV-C, tal vez porque ésta de forma natural no llega a la superficie terrestre ya que es bloqueada completamente por las moléculas de O<sub>2</sub> y O<sub>3</sub> de la atmosfera. La radiación UV-C ha sido investigada mayormente en cuanto a los efectos de su aplicación en poscosecha de frutas, hojas y hortalizas. Se ha encontrado disminución de síntesis de proteínas, retardo en la maduración, incremento en niveles de flavonoides, acumulación de fitoalexinas y la inducción de resistencia, encontrándose también respuestas negativas en los procesos celulares, el metabolismo y crecimiento (Promyou y Supapvanich, 2012).

Tanto para la radiación UV-B como la UV-C se ha estudiado poco la utilidad de la aplicación de irradiación a las semillas, ello a pesar de que teóricamente los cambios inducidos en la semilla por la irradiación pudieran hacerse patentes en etapas posteriores del crecimiento (Magliano y Casal, 2004; González-Aguilar *et al.*, 2007), por contar las cubiertas de las semillas con una gran cantidad de receptores, proteínas y compuestos señalizadores (Moïse *et al.*, 2005). Se sabe que en el girasol y la soya, las semillas irradiadas con UV-C muestran respuestas positivas frente al estrés abiótico (Foroughbakhch *et al.*, 2015), en el melón la irradiación de las semillas con UV-B causó cambios en la morfología y composición química de las plantas (Sosa-Flores *et al.*, 2014), mientras que en el repollo la irradiación de las semillas causó tolerancia frente al estrés biótico en las plantas adultas (Brown *et al.*, 2001). Sería deseable aplicar esta misma técnica en especies hortícolas tan importantes como el tomate, sin embargo, no se dispone de información acerca de la respuesta germinativa, del vigor de las plántulas y

del crecimiento de las plantas de esta especie cuando las semillas son sometidas a irradiación.

Debido a lo anterior mencionado, se desprende el siguiente:

### **Objetivo General**

Comprobar la factibilidad de utilizar la irradiación de semillas de tomate con UV-B y UV-C como una herramienta biofísica para modificar tanto las respuestas en germinación y vigor como, el crecimiento, la morfología y la composición química de las plantas.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar la respuesta de la germinación y el vigor de las semillas de tomate a la irradiación con UV-B y UV-C.
2. Verificar la respuesta en el crecimiento y morfología de las plantas cuando estas se obtienen a partir de semillas irradiadas con UV-B y UV-C.

### **Hipótesis**

Al menos uno de los tratamientos con irradiación ultravioleta será diferente al testigo, induciendo cambios fisiológicos que se expresarán como diferencias morfológicas en plántulas y plantas de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

La radiación solar es uno de los principales factores ambientales que afectan la vida en nuestro planeta, controla el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y acuáticos a través del control de procesos fotobiológicos (fotosíntesis, fotoperiodo, fototropismos, etc.) como por medio de su acción sobre otros factores ambientales (temperatura, humedad, etc.) y ciclos naturales (ciclos diarios, anuales, hídricos, etc.) que finalmente inciden en la distribución de los organismos en el planeta (Carrasco, 2009), las plantas utilizan a la luz como información para ajustar su crecimiento y desarrollo (Kami *et al.*, 2010).

Por lo anterior, es importante hablar de la radiación que llega a la tierra, y del papel que juega la capa de ozono, ya que es de vital importancia en este proceso, esta capa actúa como un componente clave protegiendo a los organismos vivos del daño que causa la radiación UV, pero los factores antropogénicos tales como la liberación de clorofluorocarbonos a la atmósfera puede resultar en la reducción de la capa de ozono, de manera general, una reducción del 1% en esta capa resulta en un incremento en la cantidad de radiación UV-B biológicamente activa en un rango de 1.3% a 1.8% (Hollosoy *et al.*, 2002), la radiación UV impacta en muchos procesos tales como: patrones de movimiento del viento, precipitación, calentamiento de la atmósfera, también se relaciona con los fenómenos de El Niño y La Niña, los cuales cambian la nubosidad, los vientos, la temperatura de la superficie del océano y la presión atmosférica al nivel del mar (Bornman *et al.*, 2015). Por lo anterior mencionado, la sociedad ha hecho algunos esfuerzos para proteger a la capa de ozono, tal es el caso del protocolo internacional de Montreal (1989), pero a pesar de ello el nivel del ozono global es todavía más bajo que en los años 70s y no se espera regresar a ese nivel en muchas décadas (McKenzie *et al.*, 2007).

La radiación electromagnética está compuesta por ondas de diferentes longitudes, dentro del espectro electromagnético que llega a la superficie terrestre están: la radiación UV, PAR y la radiación infrarroja. En el rango que comprende la radiación PAR (400-700nm) es donde la absorción es muy alta por la mayoría de las hojas (Robert, 2000; Howell., *et al.*, 1983). En longitudes de onda por debajo de 400 nm está la radiación

ultravioleta, esta radiación es dividida en tres componentes: UV-A (320-400nm), UV-B (280-320nm) y UV-C (200-280nm) (Diffey, 2002; Carrasco, 2009).

Aproximadamente del 7% al 9% de la radiación solar que alcanza la superficie terrestre está en el rango de radiación UV (200-400nm) (Coohill, 1989; Frohnmeyer and Staiger 2003).

La radiación UV-C es la más energética y dañina dentro de la radiación UV pero fisiológicamente insignificante ya que es completamente absorbida por las moléculas de O<sub>2</sub> y O<sub>3</sub> de la atmósfera. La radiación UVB es filtrada por la capa de ozono atmosférica, por lo tanto solo una pequeña porción de ella alcanza la superficie terrestre, pero a pesar de su pequeña porción (1.5 %) del total de la radiación UV, es de vital importancia ya que causa severos daños en el crecimiento y desarrollo de las plantas, finalmente tenemos a la radiación UVA, la cual atraviesa la capa de ozono alcanzando totalmente la superficie terrestre, pero es la menos energética de las tres debido a que es de longitud de onda más larga (Hollosoy *et al.*, 2002). La radiación ultravioleta también ha sido implicada como un contribuyente del calentamiento global, debido a que estimula la producción de compuestos orgánicos volátiles de las plantas y en la hojarasca (Cory *et al.*, 2013).

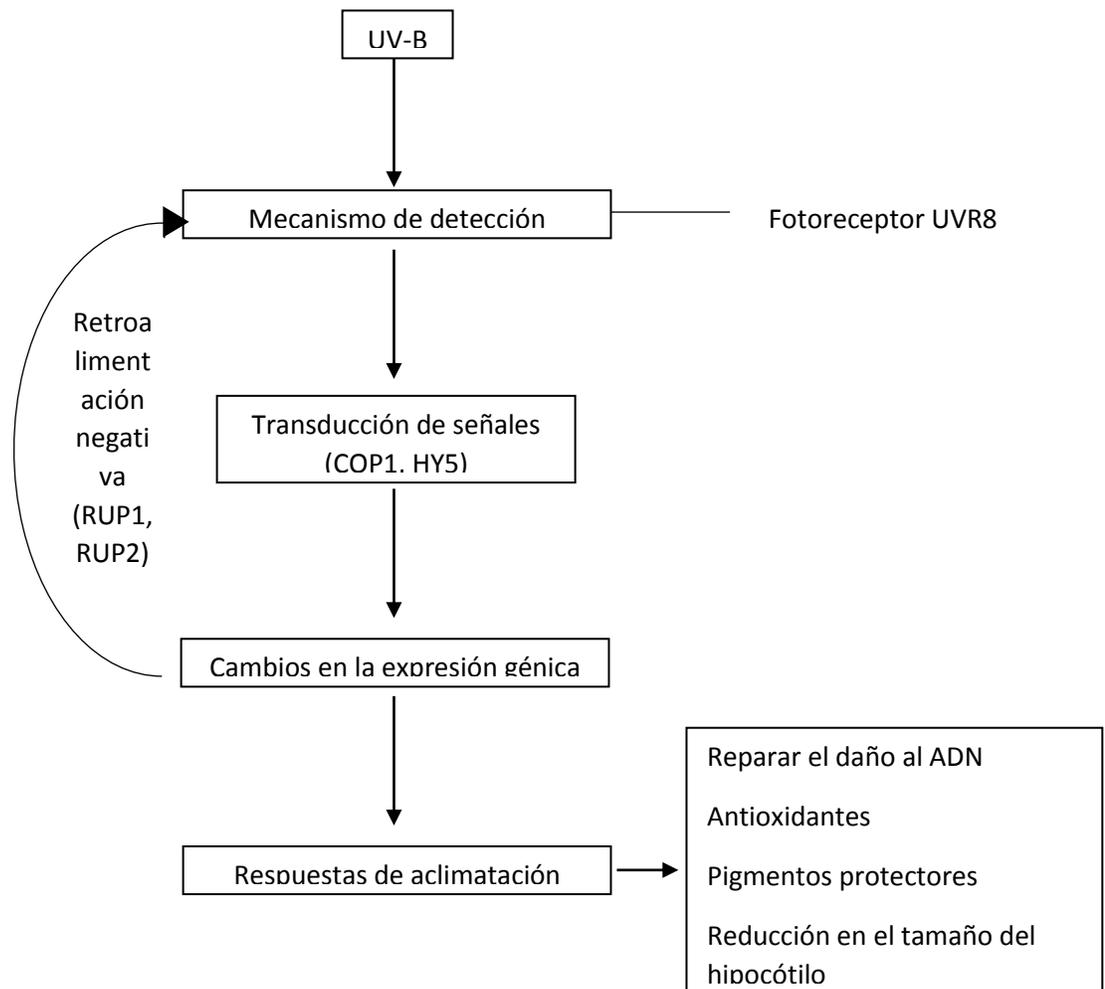
### **Radiación UV-B en la naturaleza y factores que modifican su presencia en los ecosistemas.**

Existen muchos factores que afectan la intensidad de la radiación que llega a la superficie terrestre, algunos de ellos son: la concentración del ozono atmosférico, el ángulo en el que los rayos del sol atraviesen la atmósfera, ya que a bajas latitudes (cercasas al ecuador) la radiación UV es más intensa con una proporción más grande de radiación de onda corta, esto relacionado con el bajo ángulo de incidencia de la radiación entrante (Sayre, 1998). La altitud también afecta la cantidad de radiación incidente, a mayor altura la cantidad de radiación UV incrementa, esto debido que se reduce la cantidad de aire que la radiación solar debe atravesar, similarmente la hora del día, la estación, así como las nubes, polvo, neblina, y diversos compuestos orgánicos pueden alterar la intensidad de la radiación solar incidente (Madronich *et al.*, 1998; Piacentini *et al.*, 2011; McKenzie *et al.*, 2003; Paul *et al.*, 2003).

### **Absorción, percepción y señalización de la radiación UV-B en las plantas.**

Debido al hecho de que las plantas son organismos sésiles, están expuestas constantemente a estreses ambientales, uno de ellos es la radiación solar, por ello y gracias a su característica de ser organismos fotoautótrofos, las plantas necesitan ajustar su crecimiento para adaptarse a las condiciones lumínicas existentes. Para entender lo antes mencionado basta simplemente con comparar el crecimiento de una planta casi o en oscuridad total con una de la misma especie expuesta completamente a la luz solar, esto para apreciar la regulación que la luz puede ejercer sobre el crecimiento y desarrollo, estos mecanismos son independientes de la fotosíntesis y son colectivamente conocidos como fotomorfogénesis (Tilbrook *et al.*, 2013; Kami *et al.*, 2010; Jean *et al.*, 2006).

Las plantas cuentan con receptores especializados para poder captar los estímulos ejercidos por las diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético, y con la ayuda de la genética molecular se descubrió que las plantas utilizan una multitud de proteínas sensoras para crear una conexión entre el estímulo ambiental y respuestas fisiológicas. Hablando específicamente de la luz, la planta posee sofisticados fotoreceptores que perciben incluso los menores cambios en la calidad, cantidad, dirección y duración de la luz. En el caso de *Arabidopsis thaliana*, hace uso de 13 fotoreceptores, los cuales incluyen cinco rojo/rojo lejano percibidos por fitocromos (phyA-E), dos fototropinas (phot1 and phot2), dos criptocromos (cry1 and cry2) y tres miembros de la familia Zeitlupe (ZTL, FKF1 and LKP2) para percibir la luz azul y el más recientemente caracterizado, el fotoreceptor para la radiación UV-B llamado UVR8 (Kami *et al.*, 2010; Heijde and Ulm, 2012). Con la ayuda estos fotoreceptores, las plantas son capaces de aclimatarse a la radiación que las rodea, para el caso específico de la radiación UV-B existe una única vía de señalización molecular, iniciando con la percepción de la radiación por el receptor UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS), el cual está ligado a una vía de señalización que conduce a una compleja serie de respuestas a la radiación UV-B (Figura 1) (Heijde y Ulm, 2012).

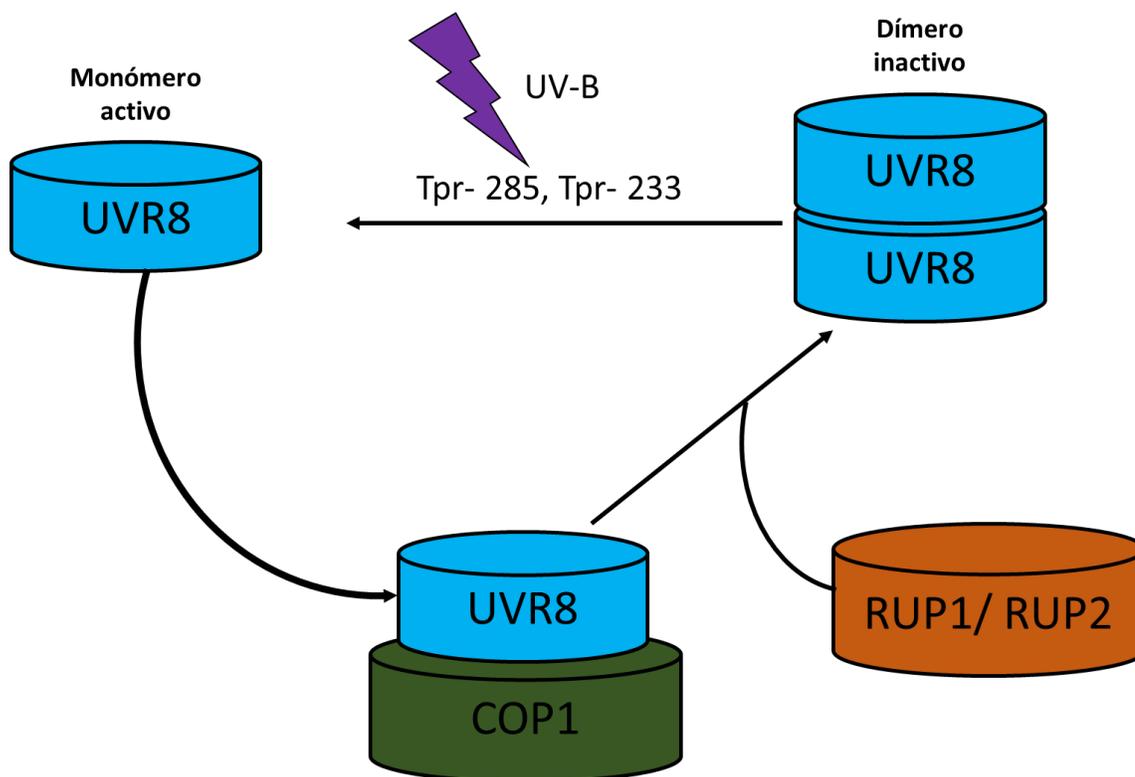


**Figura 1. Ilustración esquemática de la percepción de la UV-B, señalización y respuestas en Arabidopsis.**

Las plantas detectan la UV-B con el fotoreceptor UVR8. La activación del UVR8 lleva a la interacción con COP1 ubiquitina ligasa E3 y estabilización del factor de transcripción bZIP HY5, que libera la señal de UV-B resultando en cambios en la expresión génica. Entre el conjunto de genes sensibles a UV-B están los que codifican para proteínas que funcionan en la fotomorfogénesis y aclimatación inducida por UV-B. Esto incluye proteínas involucradas en la protección UV, eliminación de especies reactivas de oxígeno (antioxidantes), reparación del daño al ADN y la inhibición del crecimiento del hipocótilo. También las proteínas RUP1 y RUP2 son inducidas por la UV-B, lo cual facilita la retroalimentación negativa de la vía de señalización UV-B lo cual se logra directamente inactivando UVR8 (Esquema adaptado para UV-B de Tilbrook *et al.* 2013).

Antes de la identificación molecular del fotoreceptor UV-B en 2011 (Rizzini *et al.*, 2011), la naturaleza de la percepción UV-B en las plantas era incierta. Ahora una nueva era sobre nuestro entendimiento de las respuestas de las plantas a la radiación UV-B y su relación con la fotomorfogénesis ha empezado con la identificación de UVR8 como el fotoreceptor de la radiación UV-B (Tilbrook *et al.*, 2013). EL UVR8 es una proteína de siete aspas B-hélice de 440 aminoácidos (Christie *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2012). Los estudios moleculares y bioquímicos han demostrado que en condiciones de luz desprovistas de UV-B, existe el fotoreceptor UVR8 como homodímero que sufre monomerización instantánea después de la exposición UV-B, esta monomerización se debe a que la radiación UV-B provoca una pérdida de excitación en el acoplamiento de los triptófanos, lo cual conduce a la interrupción en los puentes de sal, lo cual es traducido a la monomerización (Figura 2), un proceso dependiente en un residuo de triptófano intrínseco (Trp-285 o W285,) que sirve como un cromóforo UV-B (Rizzini *et al.*, 2011; Christie *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2012).

Como para cualquier fotoreceptor, la reversión a la inactividad y al estado base es de gran importancia, UVR8 se revierte a su estado base homodímero por redimerización, el cual simultáneamente detiene la señalización UV-B y restablece la sensibilidad a la radiación UV-B (Figura 2) (Heijde y Ulm, 2013; Heilmann y Jenkins, 2013), esta reversión a estado de dímero tras la exposición a UV-B ocurre mucho más rápido in vivo (1-2 horas) que in vitro (24-48 horas) (Christie *et al.*, 2012; Heilmann y Jenkins, 2013).



**Figura 2. Fotociclo del UVR8**

El homodímero de UVR8 es monomerizado por UV-B, esto sucede por la absorción de UV-B a través de un cromóforo a base de triptófano. El monómero UVR8 interactúa directamente con COP1 para iniciar la señalización UV-B. El monómero UVR8 es redimerizado a través de la acción de RUP1 y RUP2, los cuales quebrantan la interacción, inactivan la vía de señalización y regeneran el homodímero UVR8 el cual queda listo para la recepción de UV-B otra vez (Esquema adaptado para UV-B de Tilbrook *et al.* 2013).

El fotoreceptor UVR8 se expresa en todos los órganos de las plantas, lo cual técnicamente le da a cualquier órgano de la planta la habilidad de responder a la radiación UV-B (Rizzini *et al.*, 2011). Antes de la exposición a la radiación UV-B, la mayoría de la proteína UVR8 se encuentra en el citoplasma, pero una pequeña porción también es encontrada en el núcleo, incluso en ausencia de radiación UV-B, pero tras la exposición a la radiación UV-B, el fotoreceptor se moviliza del citoplasma al núcleo celular, aunque no exclusivamente, ya que la mayoría del fotoreceptor permanece en el citoplasma, además se asume que el fotoreceptor UVR8 no actúa solo en la vía de señalización (Kaiserli y Jenkins, 2007).

La rápida acumulación nuclear de UVR8 dependiente de la radiación UV-B sugiere que hay un mecanismo específico de transporte (Kaiserli and Jenkins, 2007), ya que la proteína UVR8 tiene que estar en el núcleo para la señalización UV-B conduciendo cambios en la expresión génica, aunque no se puede excluir un papel funcional de la UVR8 en el citoplasma, pero la mayoría de la evidencia disponible indica su función central en la señalización UV-B en el núcleo (Tilbrook *et al.*, 2013).

La activación de UVR8 lleva a la interacción con E3 ubiquitina ligasa (COP1), luego a la estabilización por el factor de transcripción HY5 que libera la señal UV-B, lo cual resulta en la expresión génica, después el UVR8 necesita volver a su estado base para poder captar la radiación UV-B otra vez, para ellos existen las proteínas RUP1 y RUP2, las cuales son inducidas por la radiación UV-B, estas inactivan directamente al fotoreceptor UVR8 (Tilbrook *et al.*, 2013).

### **Efectos reportados de la radiación UV-B en las plantas.**

La principal ventaja de la percepción de la radiación UV-B mediada por UVR8 en las plantas es que esta radiación genera repuestas específicas que la planta necesita, repuestas fisiológicas que afectan el crecimiento y desarrollo en varios estadios del ciclo de vida de la planta, las cuales pueden ser vistas tanto en condiciones de laboratorio como en ambiente natural (Jenkins, 2009; Demkura and Ballare, 2012; Wargent and Jordan, 2013). Estas repuestas le ayudan a las plantas a aclimatarse a la radiación UV-B y por lo tanto ayudan a prevenir el estrés por dicha radiación.

Los efectos biológicos de la radiación UV-B son significantes debido a la energía que contienen los fotones de UV-B de onda corta, por lo tanto un conjunto de moléculas biológicamente activas tales como los ácidos nucleicos pueden absorber esta radiación y ser dañados (Tilbrook *et al.*, 2013).

Algunas repuestas reportadas de la radiación UV-B en las plantas son las siguientes: inhibición del crecimiento del hipocótilo, acumulación de glucósidos de flavonol (compuestos que absorben la radiación UV-B) (Kliebenstein *et al.*, 2002; Favory *et al.*, 2009; Stracke *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2013), diferenciación estomática (Wargent *et al.*, 2009), eficiencia fotosintética (Davey *et al.*, 2012), resistencia patogénica (Demkura y Ballare, 2012), regulación estomática (Eisinger *et al.*, 2003), fototropismo (Shinkle *et*

*al.*, 2004), biosíntesis de vitamina B6 (Brosche *et al.*, 2003, Ristilä *et al.*, 2011), alteraciones en los metabolitos secundarios (Jansen *et al.* 2008; Kusano *et al.*, 2011), daños al fotosistema II (Britt, 2004; Takahashi *et al.*, 2010).

**Modificación del metabolismo antioxidante por la exposición a la radiación UV: componente enzimático.**

Uno de los principales daños causados por la radiación UV-B es la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la célula, estos ROS pueden desnaturalizar las enzimas y causar un daño importante en los componentes celulares (Kumari *et al.*, 2010). Para minimizar el efecto dañino de los ROS, las plantas hacen uso de sus sistemas de defensa, antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Agarwal, 2007). Hablando específicamente del sistema antioxidante de defensa enzimático, hay efectos reportados de incremento en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y polifenol oxidasa, estos efectos fueron reportados en plántulas de *Cassia auriculata* L. Se sugiere que dichos efectos son producidos con el objetivo de contrarrestar el efecto negativo de los ROS, y lograr una desintoxicación de las células (Agarwal, 2007). Efectos muy similares en el incremento de las enzimas superóxido dismutasa, glutatión reductasa, catalasa y guayacol peroxidasa se encontraron en plántulas de coco y de pepino después del tratamiento con radiación UV- B (Kataria *et al.*, 2007).

Otras enzimas como la NADPH oxidasa también incrementa su actividad después de la exposición a la radiación UV-B en *Arabidopsis*, lo cual puede incrementar la posibilidad de que esta enzima sea una fuente potencial de ROS, las enzimas de la vía de los fenilpropanoides como la Chalcona sintasa y la fenilalanina amonio liasa también incrementan su actividad (Soheila *et al.*, 2000), la enzima chalcona sintasa es necesaria para la biosíntesis de los flavonoides (Jenkins, 2008).

La radiación UV-B conduce a la generación de ROS y estrés oxidativo, su exposición resulta en un incremento en la expresión y actividad de enzimas antioxidantes incluyendo ascorbato peroxidasa, superóxido dismutasa y glutatión reductasa (A-H-Mackerness, 1998; Rao *et al.*, 1996).

**Modificación del metabolismo antioxidante por la exposición a la radiación UV:  
componente no enzimático.**

A pesar de que la radiación UV-B es un pequeño componente de la radiación solar, causa un daño biológicamente potencial, las plantas responden a este estímulo con la producción de algunos compuestos que le ayudan a defenderse ante este estrés, uno de ellos es la producción y acumulación de flavonoides, los cuales son un grupo diverso de metabolitos secundarios que sirven de una amplia gama de funciones biológicas (Winkel-Shirley, 2002; Caldwell *et al.*, 1983), poseen propiedades de absorción de radiación UV-B, lo que les da la capacidad de funcionar como filtros UV-B, estos flavonoides son producidos principalmente en las capas epidérmicas de las hojas y se piensa que absorben una gran porción de la radiación UV-B incidente antes de penetrar los tejidos (Greenberg, 1996; Schmelzer *et al.*, 1988), tal es el caso de los glucósidos de flavonol que se acumulan en la vacuolas de las capas epidérmicas y subepidérmicas donde se encargan de proteger al tejido subyacente de la radiación UV-B (Caldwell *et al.*, 1983; Jenkins, 2008), prueba de lo anterior es que en el mutante de *Arabidopsis* desprovistos de flavonoides son altamente sensibles a la radiación UV-B (Landry *et al.*, 1995; Stracke *et al.*, 2010).

Otras respuestas ante la exposición UV-B es el incremento en las proteínas defensivas, y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como los radicales hidroxilo, exógenos, radicales superóxido y peróxidos de hidrógeno, los cuales pueden ser generados dentro del cloroplasto ya que la membrana del tilacoide es rápidamente perturbada por la radiación UV-B (Caldwell, 1993).

Los ROS pueden favorecer la defensa de las plantas, ya que han sido implicados en la muerte directa de las células de los patógenos, así como actuando como señales reguladoras (segundos mensajeros) de la expresión génica intracelular (Soheila *et al.*, 2000), en *Arabidopsis*, la exposición a UV-B lleva al incremento de los transcritores de los genes relacionados a la patogénesis y a un decremento de algunas proteínas fotosintéticas (*Lhcb*, *RbcS*, *rbcL* and *psbA*) (Soheila *et al.*, 2000).

Los niveles de ácido salicílico también incrementan a manera de respuesta a varios estreses ambientales incluyendo la radiación UV-B, luego el ácido salicílico regula la producción de proteínas de resistencia (PR) (Surplus *et al.*, 1998), en tomate, la

exposición a UV-B lleva a un incremento en los niveles de jasmonato (Conconi *et al.*, 1996), la hormona etileno también es sintetizada por la acción de estreses y la radiación UV-B es uno de ellos (Predieri *et al.*, 1995).

Los cuatro componentes: ROS, ácido salicílico, jasmonatos y etileno han sido mostrados ser reguladores clave en la expresión génica en respuesta varios estreses ambientales, uno de los cuales es la radiación UV-B (Soheila *et al.*, 2000).

Los principales antioxidantes no enzimáticos son el ascorbato y el glutatión, estos antioxidantes reaccionan con el oxígeno singlete, superóxido y radicales hidroxilo (Agarwal, 2007).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, ubicada a 25°21'19" latitud norte y a 101°01'48" longitud oeste a una altura de 1779 msnm. El material vegetal utilizado fue tomate (*Solanum lycopersicum* L.) híbrido Big Rio. El experimento se llevó a cabo en 2 etapas.

La primera etapa se inició con la irradiación de las semillas el día 7 de noviembre del 2014, esta actividad se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Horticultura de la UAAAN usando una cámara de irradiación con una lámpara modelo 3UV-36, la cual emite radiación en diferentes rangos: UV-A, UV-B y UV-C. La irradiancia de la lámpara es diferente en cada rango, en el rango UV-B es de 0.06 W m<sup>-2</sup>, mientras que la UV-C es de 0.03 W m<sup>-2</sup>.

Los tratamientos aplicados fueron distintos tiempos de irradiación y se muestran en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Tratamientos utilizados en la primera etapa.

Tratamientos UV-B	Tiempo de irradiación (minutos)	energía aplicada (kJ m <sup>-2</sup> )
T1	0	0
T2	5	1.8
T3	15	5.4
T4	30	10.8
T5	45	16.2
T6	60	21.6
T7	75	27
T8	90	32.4
Tratamientos UV-C	Tiempo de irradiación (minutos)	energía aplicada (kJ m <sup>-2</sup> )
T1	0	0
T2	5	0.9
T3	15	2.7
T4	30	5.4
T5	45	8.1
T6	60	10.8
T7	75	13.5
T8	90	16.2

La radiación UV-C es más energética pero la lámpara en este rango emite la radiación con una densidad de flujo fotónico menor, es por ello que con el mismo tiempo de exposición, la UV-B da lecturas superiores.

Después de irradiar las semillas, estas fueron colocadas en bolsas de papel aluminizado, para evitar que la radiación del entorno pudiera modificar el estímulo causado por la radiación UV (Musil *et al.*, 1998), y llevadas a siembra al día siguiente.

Cada tratamiento contó con cuatro repeticiones y cada repetición con 25 semillas. Las semillas irradiadas se sembraron en rollos de papel anchor para germinación previamente humedecidos, cada rollo correspondió a una repetición conteniendo 25 semillas. Los rollos se distribuyeron al azar dentro de una cámara de germinación LAB-LINE a 25°C con 16 horas de luz y 8 horas de obscuridad, por lo tanto el análisis de datos se realizó con un diseño completamente al azar. Cada día se verificó y controló la humedad del papel. Las semillas se mantuvieron bajo estas condiciones por 15 días, en esa fecha se realizaron las evaluaciones de: porcentaje de semillas germinadas, porcentaje de plántulas normales, longitud de hipocótilo (cm), longitud de radícula (cm) y peso seco del total de plántulas germinadas (mg) para ambas radiaciones.

Los tratamientos utilizados en la segunda etapa fueron los que presentaron mejores resultados en las variables semillas germinadas y plántulas normales, en las evaluaciones realizadas en la primera etapa (Cuadro 3). Los tratamientos aplicados en la segunda etapa fueron se muestran en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Tratamientos utilizados en la segunda etapa.

Tratamientos UV-B	Tiempo de irradiación (minutos)	Energía aplicada (kJ m <sup>-2</sup> )
T1	0	0
T2	5	1.8
T3	15	5.4
T4	30	10.8
Tratamientos UV-C	Tiempo de irradiación (minutos)	Energía aplicada (kJ m <sup>-2</sup> )
T5	5	0.9
T6	15	2.7

La aplicación de la radiación a las semillas se realizó en el mismo lugar, con los mismos materiales y siguiendo los mismos procedimientos descritos en la primera etapa.

La segunda etapa experimental se llevó a cabo de marzo a julio del año 2015, en un invernadero tipo capilla con cubierta rígida de policarbonato ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México. Las semillas irradiadas se sembraron directamente en contenedores de poliestireno de 1.0 L conteniendo perlita y turba ácida en una proporción 1:1, a cada contenedor se le colocaron 2 semillas para asegurar al menos una plántula, donde germinaron las dos semillas, una fue eliminada. Los contenedores se colocaron en mesas plásticas de 0.85 m de altura para facilitar el manejo, las mediciones y que las raíces tuvieran contacto con el piso del invernadero, los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar.

El sistema de riego constó de una bomba marca Aqua Pak modelo AP-5X, válvulas reguladoras de presión, manómetro de glicerina, manguera de 16 mm, goteros distribuidores, tubines y goteros de estaca.

El riego se llevó a cabo inicialmente con agua corriente, a los 10 días ocurrió la emergencia de las plántulas y 10 días después se comenzó a aplicar la fertilización con solución Steiner (Steiner, 1961) al 25 %.

Transcurridos 50 días después de la siembra se llevaron a cabo evaluaciones de unidades SPAD en un foliolo de la tercera hoja completamente expandida con un SPAD 502 plus marca Minolta. La altura de las plantas fue medida con una cinta métrica y el diámetro del tallo con un vernier digital a un centímetro de distancia de la base del tallo, ambas variables se midieron a los 52 días después de la siembra. A los 65 días después de la siembra se realizaron impresiones epidérmicas (método del pegamento pvc y cinta adhesiva) sobre la tercera hoja totalmente expandida para determinar la densidad estomática del haz y del envés (estomas  $\text{mm}^{-2}$ ), utilizando un objetivo de 40 x de un microscopio compuesto (Carl Zeiss) con cámara digital (Pixera Winder Pro) y un software de medición (Axion Vision Rel. 4.8). Los pesos frescos y secos de las plantas fueron evaluados 5 plantas elegidas al azar de cada tratamiento, transcurridos 65 días después de la siembra.

Se utilizó un diseño completamente al azar, los datos se analizaron en el programa SAS versión 9.1 utilizando PROC ANOVA y una prueba de comparación de media mediante Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ).

El modelo estadístico es el siguiente:  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto del tratamiento i.

$\varepsilon_{ij}$  = Error aleatorio

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Respuestas de germinación y vigor frente a la irradiación UV-B.

La radiación UV-B provocó diferencias en las variables semillas germinadas (%), plántulas normales (%) y peso seco (g), por otro lado no existieron diferencias en las variables longitud de hipocótilo (cm) y longitud de raíz (cm) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la primera etapa del experimento (UV-B).

FV	Grados de libertad	Semillas germinadas (%)	Plántulas normales (%)	Longitud de hipocótilo (cm)	Longitud de raíz (cm)	Peso seco (mg)
Energía UV-B	7	106.78**	412.50**	0.53NS	0.38NS	74.06**
Error	24	13.50	17.50	0.35	1.45	7.55
CV %		4.16	6.11	9.26	21.79	10.33

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS= No significativo; \*= Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre tratamientos.

En las variables con diferencia se observa claramente una tendencia de incremento con un máximo en el tratamiento con  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$ , después una disminución que alcanza los valores más bajos con  $16.2 \text{ kJ m}^{-2}$ , posteriormente vuelve a presentar una tendencia positiva alcanzando otro pico en el tratamiento con  $27 \text{ kJ m}^{-2}$  (Figura 3).

En la variable semillas germinadas (Figura 3), el tratamiento con  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$  de radiación UV-B es estadísticamente superior al testigo ( $0 \text{ kJ m}^{-2}$ ), esta clase de respuesta ha sido explicada por Luckey (1980), quien menciona que la aplicación subletal de un agente capaz de inducir un estrés físico o químico puede generar respuestas positivas. Al parecer a los  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$  se alcanza un umbral de respuesta en la semilla en el que pudieron actuar ciertos receptores que desencadenaron una respuesta enfocada a acelerar la germinación. Las dosis mayores a  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$  dieron lugar a respuestas no diferentes al testigo, pero con el tratamiento de  $27 \text{ kJ m}^{-2}$  se alcanza de nuevo un valor más alto de

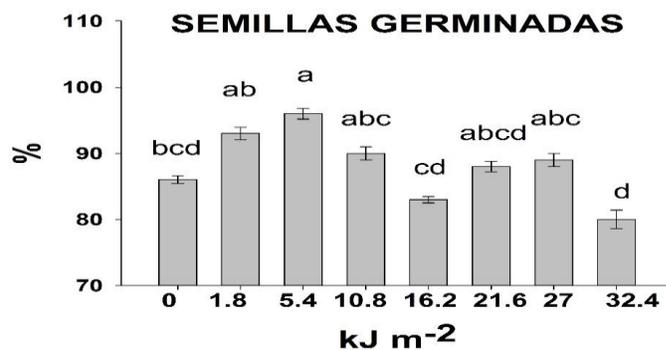
porcentaje de germinación. Posiblemente con esta cantidad de energía mayor pudo alcanzarse un segundo umbral de respuesta en la semilla, en dicho umbral pudieron verse involucrados diferentes receptores. Esta clase de respuestas con varios máximos y tal vez dependientes de diferentes receptores son muy valiosas para las semillas desde un punto de vista adaptativo, ya que permiten una mayor flexibilidad en la respuesta frente a diferentes contextos ambientales (ejemplos: diferentes profundidades bajo el suelo en un banco de semillas o distintos tipos o coberturas de dosel sobre un banco de semillas) y aseguran que no sea solamente un cierto valor umbral o un estímulo individual el que desencadene el proceso germinativo y el crecimiento del embrión (Long *et al.*, 2015).

Resultados muy similares se encontraron en el porcentaje de plántulas normales (Figura 4), los tratamientos con 1.8 y 5.4  $\text{kJ m}^{-2}$  fueron superiores al testigo, tal vez como consecuencia de un efecto hormético por radiación mencionado por Luckey (1980). Normalmente estas respuestas son positivas ya que la formación de una plántula normal asegura el crecimiento óptimo y mejor productividad (Delibaltova e Ivanova, 2006). El tratamiento con 27  $\text{kJ m}^{-2}$  mostró un nuevo pico de respuesta al igual que en la variable semillas germinadas, lo que pudiera indicar la acción de diferentes receptores o cascadas de señalización activadas con diferentes umbrales de energía.

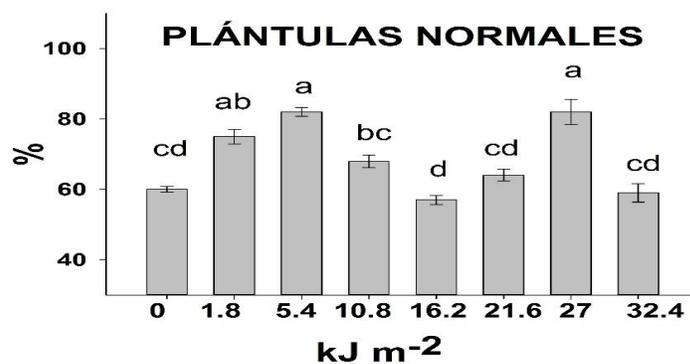
En la variable longitud de hipocótilo (Figura 5) al igual que en la longitud de raíz (Figura 6) no existió diferencia significativa. Otros autores encontraron respuesta a la irradiación en estas variables, Kacharava (2009) irradió semillas de frijol durante 30 minutos y encontró un incremento en la altura de planta, pero con 90 minutos la altura disminuyó. De igual manera, Hidema *et al.* (2006) encontraron que la radiación suplementaria con UV-B disminuyó el crecimiento de la planta y la producción de grano en el arroz. No se dispone hasta el momento de una explicación de porqué frente al estímulo con UV-B ocurren respuestas diferentes, positivas, negativas o neutras, entre especies incluso de la misma familia (Kossuth and Biggs, 1981). Lo mismo ocurre con las distintas respuestas exhibidas por diferentes variables en la misma especie, tal como se muestra en este estudio.

En el peso seco (Figura 7) se repite la misma respuesta ya descrita para el porcentaje de semillas germinadas y de plántulas normales, con máximos en 5.4 y 27  $\text{kJ m}^{-2}$ . Un

resultado análogo fue descrito por Kacharava (2009), quien reportó un incremento en la materia seca aplicando 60 minutos de radiación ultravioleta a semilla de frijol.



**Figura 3. Porcentaje de semillas de tomate germinadas en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla.**



**Figura 4 . Porcentaje de plántulas normales de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla.**

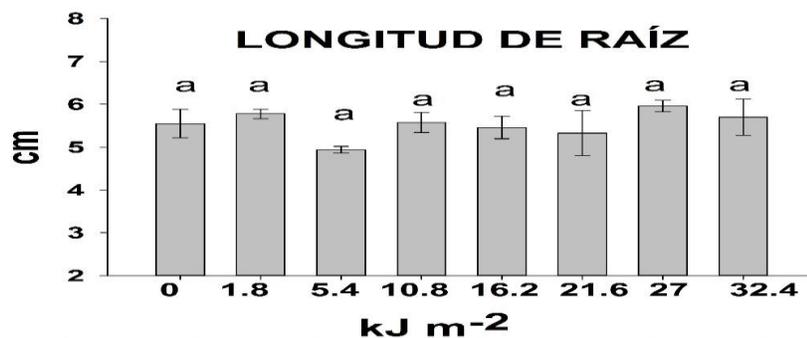


Figura 5. Longitud de raíz de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla.

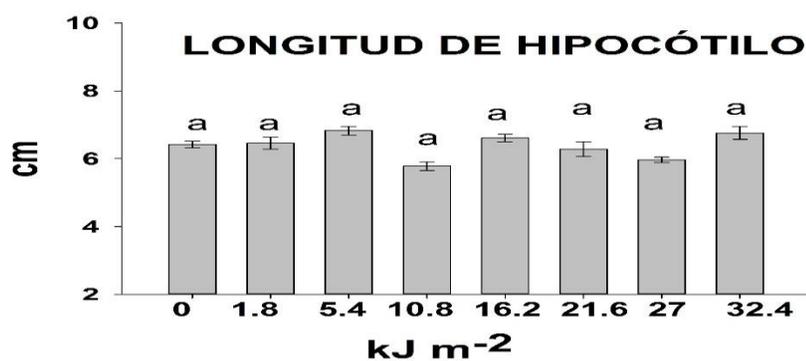


Figura 6. Longitud de hipocótilo de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla.

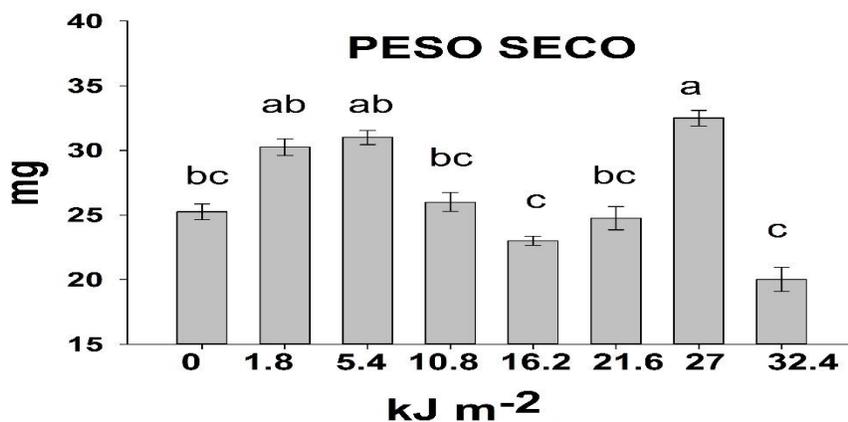


Figura 7. Peso seco de plántulas de tomate en relación a la energía UV-B aplicada a la semilla.

### Respuestas de germinación y vigor frente a la irradiación UV-C.

Al contrario que con la irradiación con UV-B, en el caso de la UV-C no se presentaron respuestas positivas (Cuadro 4). Es posible que esta diferencia provenga del hecho de que, al contrario que la UV-B, la radiación UV-C no es un componente natural en los ecosistemas (Nawkar *et al.*, 2013). Es posible que las respuestas observadas en las semillas germinadas y las plántulas sean resultado del daño oxidativo causado por la exposición inclusive a las dosis más pequeñas de UV-C (Promyou y Supapvanich, 2012). Ello explica en parte el porqué las respuestas negativas fueron evidentes en los procesos más sensibles al daño oxidativo: la germinación y la obtención de plántulas normales después de la germinación (Figuras 8 y 9). Mientras que los procesos posteriores que dieron lugar a la longitud de hipocótilo, la longitud de la raíz y el peso seco, que son variables evidenciadas solamente en plántulas normales, no se vieron afectadas (Figuras 10, 11 y 12). Estos últimos resultados son coincidentes con los reportados por Foroughbakhch-Pournavab *et al.* (2015) en trigo y girasol.

**Cuadro 4.** Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la primera etapa del experimento (UV-C).

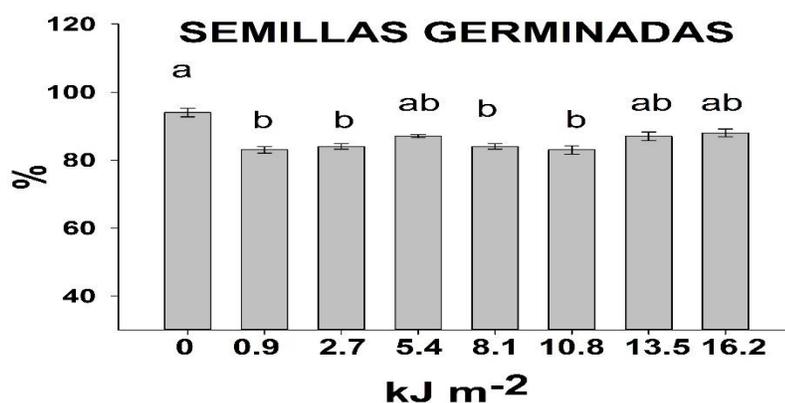
FV	Grados de libertad	Semillas germinadas (%)	Plántulas normales (%)	Longitud de hipocótilo (cm)	Longitud de raíz (cm)	Peso seco (mg)
Energía UV-B	7	54.57*	374.21**	0.71NS	1.21NS	13.05NS
Error	24	17.33	63.16	0.75	1.41	7.55
CV		4.82	12.20	13.91	21.80	8.35

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS= No significativo; \*= Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre tratamientos.

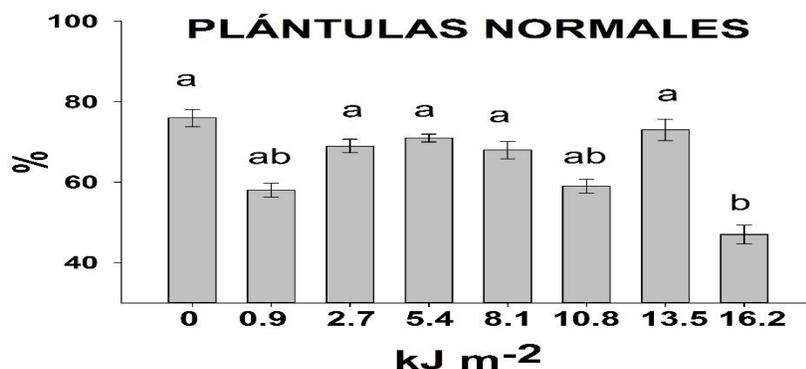
En la variable semillas germinadas (Figura 8) la respuesta frente a la radiación fue prácticamente la misma con todas las dosis de UV-C, mostrando valores menores al testigo con las dosis de 0.9, 2.7, 8.1 y 10.8  $\text{kJ m}^{-2}$ , mientras que con las dosis de 5.4, 13.5 y 16.2 no existieron diferencias significativas. Estos resultados señalan la gran sensibilidad de la respuesta germinativa frente al estímulo con UV-C y son muy

similares a los reportados por Brown *et al.* (2001), quien irradió semillas de lechuga y encontró respuestas de este tipo, subiendo y bajando según la dosis, en las variables de incidencia de *Xanthomonas campestris pv. campestris* y en la de unidades formadoras de colonias.

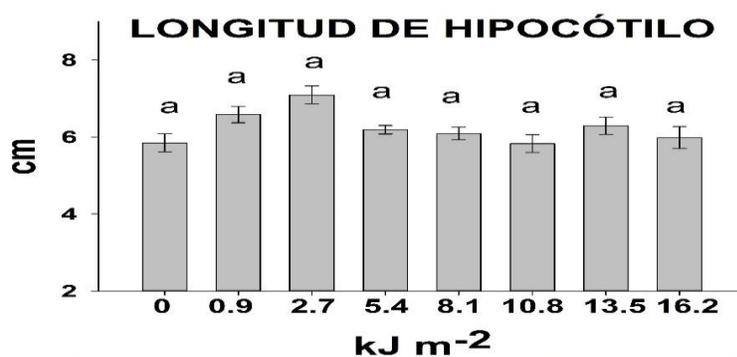
En el porcentaje de plántulas normales (Figura 9) solo la dosis más alta de 16.2 kJ m<sup>-2</sup> mostró un valor más bajo que el testigo, lo que de nuevo apoya la explicación de que al contrario que el estímulo con UV-B, que parece una respuesta a un estímulo fotomorfogénico, la respuesta frente a la UV-C se da por el daño oxidativo o de otra índole que causa la gran cantidad de energía acarreada por los fotones UV-C. Estos resultados coinciden con los de Brown *et al.* (2001), quien reporta que el diámetro de la cabeza de plantas de lechuga, obtenidas de semillas tratadas con dosis bajas de radiación UV-C no fue diferente al testigo, mientras que en las provenientes de semillas tratadas con dosis más altas el diámetro se redujo considerablemente. Otras respuestas negativas frente a la radiación UV-C aplicada en tejidos de plantas son el bajo contenido de proteína, disfunciones en los cloroplastos, daños al ADN y en varios procesos celulares (Danon y Gallois, 1998; Rastogi *et al.*, 2010; Ruíz López, 2010).



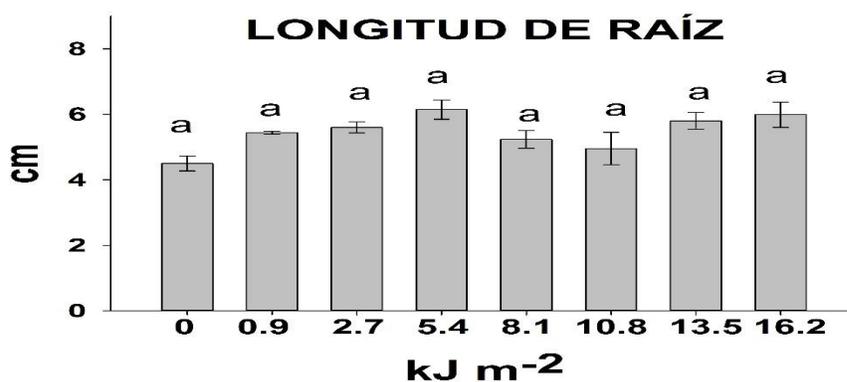
**Figura 8. Porcentaje de semillas germinadas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla.**



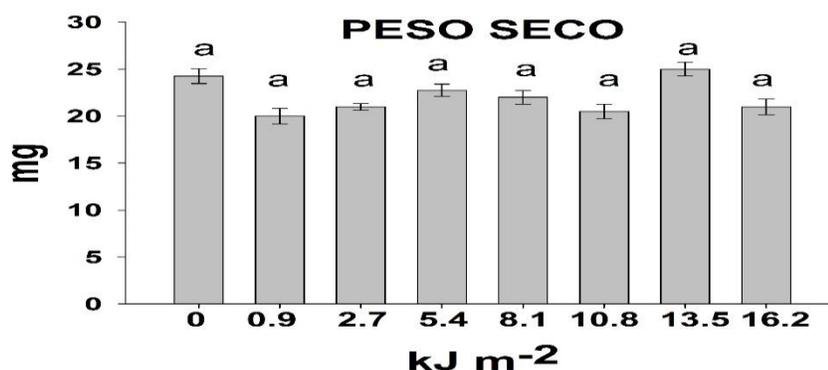
**Figura 9.** Porcentaje de plántulas normales de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla.



**Figura 10.** Longitud de hipocótilo de plántulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla.



**Figura 11.** Longitud de raíz de plantulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla.



**Figura 12.** Peso seco de plántulas de tomate en relación a la energía UV-C aplicada a la semilla.

### Respuestas de las plantas obtenidas de las semillas irradiadas con UV-B y UV-C.

En la segunda etapa, las variables de unidades SPAD, densidad estomática del haz y envés (Cuadro 5), concentración de calcio y sodio (Cuadro 6) fueron diferentes al testigo, lo que indica que la radiación aplicada a la semilla es capaz de generar cambios que se hacen visibles en etapas posteriores, tal como fue descrito por Musil *et al.* (1998) y Magliano y Casal (2004) para las señales ambientales percibidas en la pre-germinación por los fitocromos.

**Cuadro 5.** Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la segunda etapa del experimento (UV-B y UV-C).

FV	GL	SPAD	Altura de planta	Diámetro de tallo	GL	D.E. Haz	D.E. Envés
<b>Energía UV-B y UV-C</b>	5	35.05**	11.11*	0.30NS	5	2021.84*	1205.33*
<b>Error</b>	24	3.88	2.84	0.143	12	290.14	211.33
<b>CV</b>		5.91	9.27	7.47		27.47	9.02

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS= No significativo; D.E.Haz= Densidad estomática del haz; D.E.Envés= Densidad estomática del Envés; \*= Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre tratamientos.

En la variable altura de planta (Figura 13) y diámetro de tallo (Figura 14) ningún tratamiento fue diferente al testigo. Este comportamiento de las plantas de tomate fue diferente al reportado para otras especies como el repollo que mostró mayor crecimiento al irradiarse las semillas con  $3.6 \text{ kJ m}^{-2}$  de UV-C (Brown *et al.*, 2001), *Arabidopsis* con disminución en los pecíolos frente a la radiación UV-B (Gruber *et al.*, 2009) o la soya que mostró menor longitud en las plántulas cuando sus semillas fueron irradiadas con UV-C (Foroughbakhch-Pournavab *et al.*, 2015). De nuevo parece aplicar la diferente respuesta de cada especie (Kossuth and Biggs, 1981), considerando factores como el tamaño de la semilla, el grosor de testa, la composición química u otras propiedades intrínsecas de la semilla de cada especie.

En la densidad estomática del haz (Figura 15) y del envés (Figura 16) se encontraron cambios inducidos por la irradiación de las semillas con UV-B y UV-C. Tanto para la irradiación con UV-B como para UV-C la respuesta en las plantas fue elevar la densidad estomática en el haz, mientras que para la densidad estomática en el envés se encontró una tendencia inversa frente a la mayor dosis de energía aplicada con UV-B, pero una respuesta contraria al aplicar la UV-C. Wargent *et al.* (2009) indicaron que este tipo de respuestas adaptativas frente a la radiación UV impactan en el desempeño de las plantas, modificando la interacción con los diferentes factores ambientales a través de cambios en la forma, fisiología y bioquímica. Resultados análogos fueron obtenidos por Benavides-Mendoza *et al.* (2003), al irradiar semillas de trigo con un láser de baja intensidad AsAlGa, observando que con una dosis de  $6 \text{ kJ m}^{-2}$  las plántulas obtenidas de las semillas irradiadas mostraron valores mayores de densidad estomática en el haz y en el envés al crecer en un ambiente propicio para el crecimiento, mientras que al germinar en un medio con diferentes niveles de salinidad las plántulas irradiadas presentaron una clara respuesta adaptativa disminuyendo la densidad estomática, respuesta que no fue observada en el testigo. Es probable que las plantas de tomate obtenidas de las semillas irradiadas con UV muestren respuestas con algún trasfondo de adaptación a un ambiente en donde se detecta una mayor cantidad de energía radiante, lo cual implicaría la necesidad de ajustes en los caracteres de la epidermis.

En las variables peso fresco (Figura 17) y peso seco (Figura 18) no se encontró diferencia entre tratamientos con respecto al testigo. De nuevo estos resultados parecen indicar una respuesta específica para las plantas de tomate, ya que Kacharava (2009) reportó incrementos en el peso fresco de algunas variedades de *Phaseolus vulgaris* con aplicaciones de 60 y 90 minutos de UV-B, así como un aumento en el peso de remolacha blanca con 60 minutos de UV-B aplicada a la semilla. En la lechuga la irradiación de las semillas con un láser de baja intensidad causó aumento en la biomasa radical, pero no cambió el peso de las hojas y el tallo (Benavides-Mendoza *et al.*, 2003).

**Cuadro 6.** Cuadrados medios del análisis de varianza (ANOVA) para las variables evaluadas en la segunda etapa del experimento (UV-B y UV-C).

FV	GL	Peso fresco (mg)	Peso seco (mg)	K (mg Kg <sup>-1</sup> )	Mg (mg Kg <sup>-1</sup> )	Ca (mg Kg <sup>-1</sup> )	Na (mg Kg <sup>-1</sup> )
<b>Energía UV-B y UV-C</b>	5	940.61NS	9.26NS	13.15NS	2.70NS	74.56**	.694*
<b>Error</b>	24	1080.68	7.71	15.95	1.53	.948	.156
<b>CV</b>		22.13	10.89	11.89	12.44	3.40	33.11

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS= No significativo; \*= Diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre tratamientos.

Las unidades SPAD (Figura 19) disminuyeron con los tratamientos 5.8 y 10.5 kJ m<sup>-2</sup> de UV-B. La respuesta puede explicarse considerando que las unidades SPAD miden indirectamente la concentración de clorofila en las láminas foliares (Rodríguez-Mendoza *et al.*, 1998) y que este pigmento responde de forma inversa a la cantidad de energía radiante detectada en el ambiente (Vu *et al.*, 1984; Strid *et al.*, 1990). Los resultados aquí obtenidos indican claramente que dicha señalización ocurre desde la semilla. En contraste con la UV-B en el caso de la irradiación con UV-C no hubo diferencias con el testigo, pero en los tratamientos de UV-C (Figura 19) se muestra una tendencia positiva en los datos distinta a la exhibida por los de UV-B.

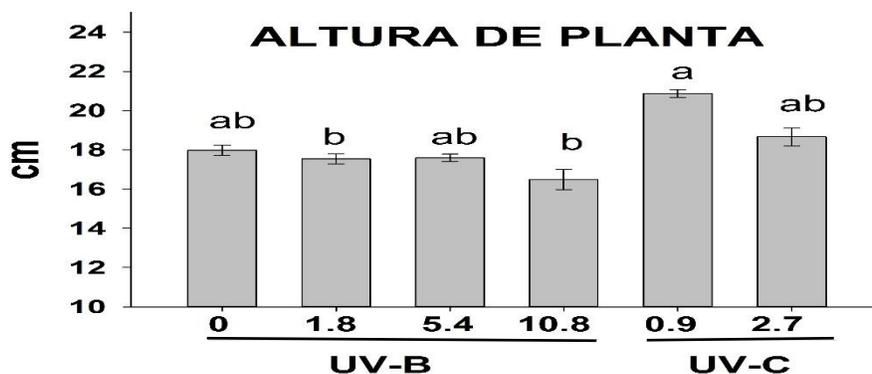


Figura 13. Altura de plantas de tomate en relación a la anergia UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

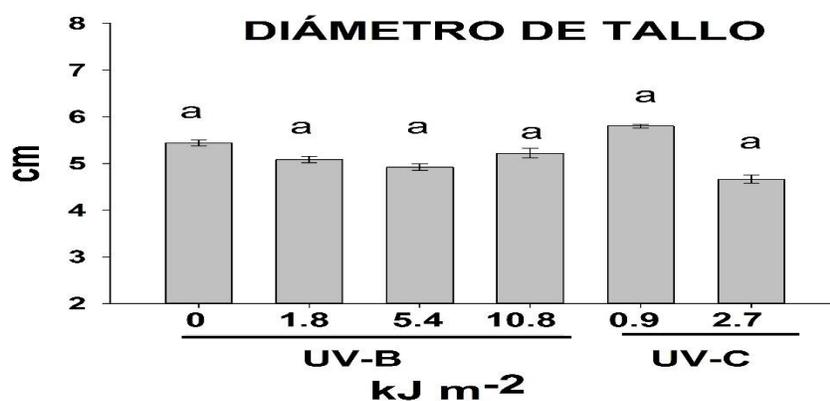


Figura 14 . Diametro de tallo de plantas de tomate relación a la anergia UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

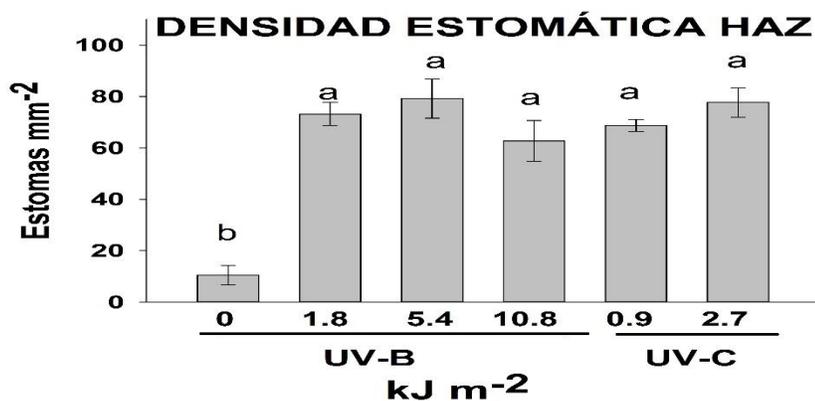


Figura 15. Densidad estomática del haz de hojas de plantas de tomate en relación a la anergia UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

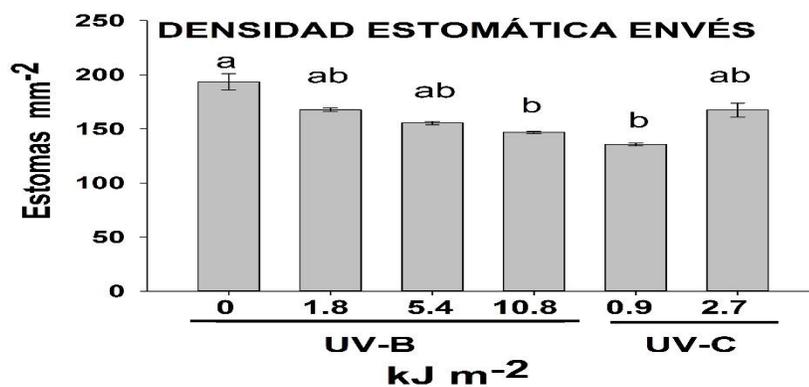


Figura 18. Densidad estomática del envés de hojas de plantas en relación a la anergia UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

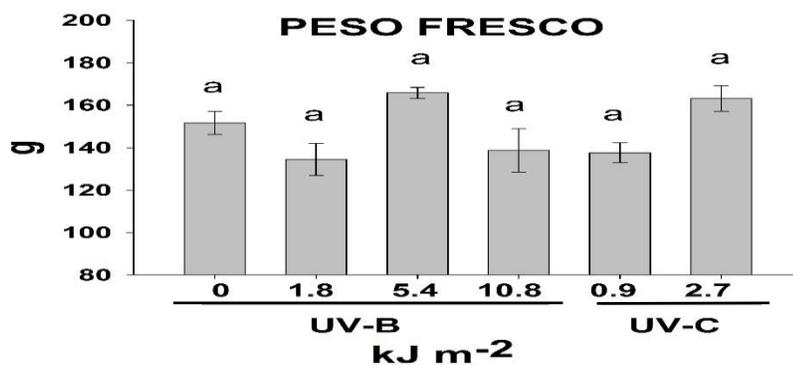


Figura 17. Peso fresco de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

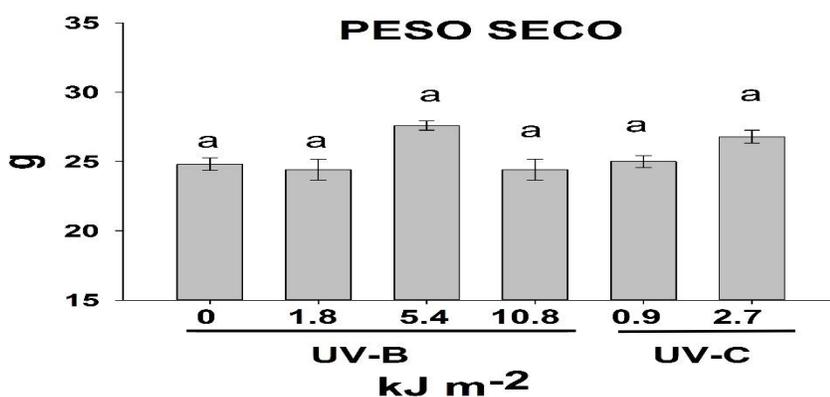
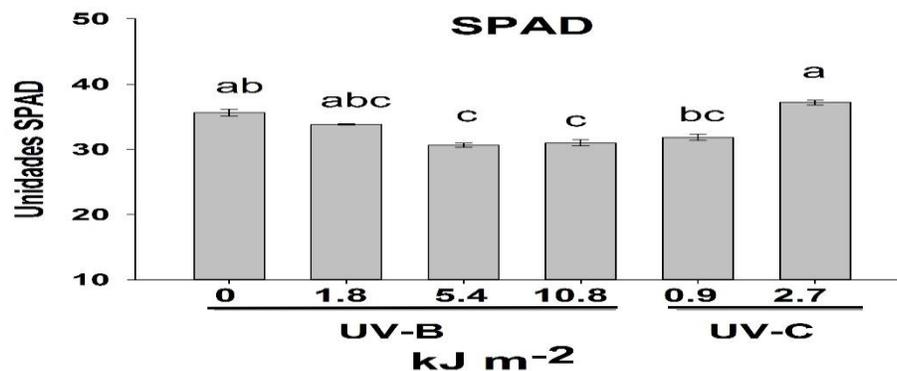
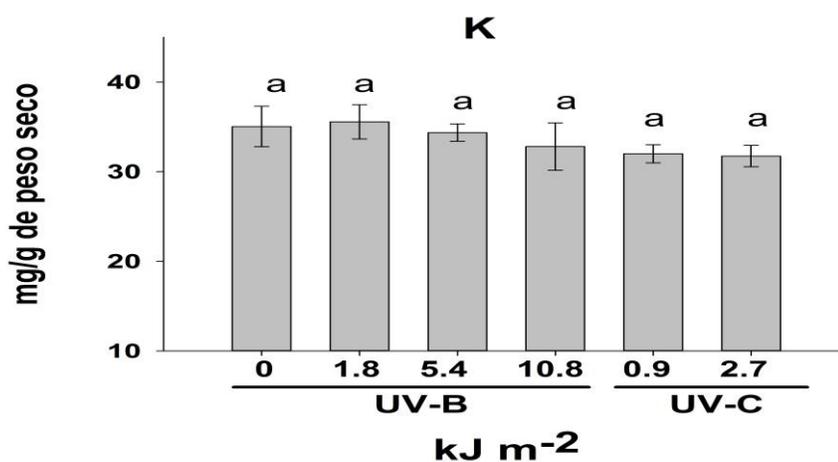


Figura 16. Peso seco de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.



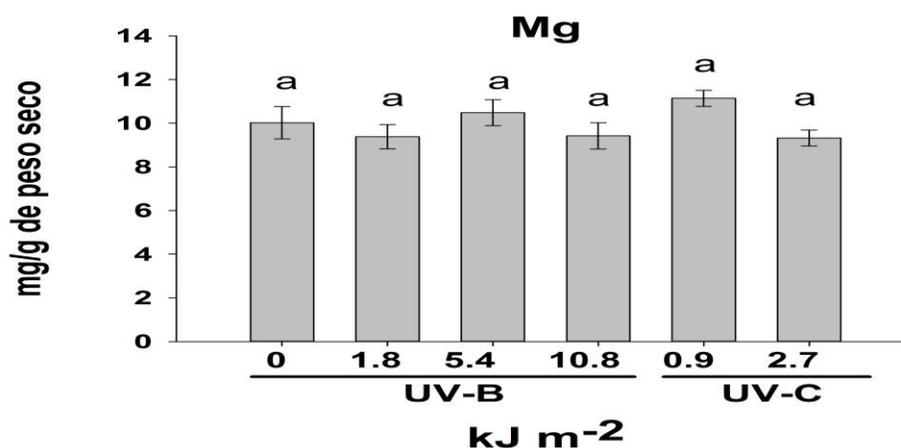
**Figura 19. Unidades SPAD de hojas de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.**

La acumulación de K (Figura 20) en el tejido aéreo de plantas de tomate no es alterado por la acción de las diferentes dosis de radiación UV-B y UV-C aplicadas a la semilla, esto puede deberse a que el estímulo por radiación no fue suficientemente fuerte como para provocar cambios génicos que pudieran modificar la actividad de los canales de transporte de K o a que la cascada de señales modificada por Tilbrook *et al.* 2013 (Figura 1) no tenga ninguna relación o vínculo con el transporte de K, por ello no hay cambios en la asimilación de este elemento.



**Figura 20 . Acumulación de potasio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.**

Los dos tipos de radiación no provocaron cambios en la concentración de Mg (Figura 21) en el tejido aéreo de la planta de tomate, lo que puede parecer contradictorio a lo encontrado en las variable de unidades SPAD ya que el Mg es el átomo central de la molécula de la clorofila (Shaul, 2002), pero el Mg también está presente y participa en diferentes actividades, es esencial para el funcionamiento de muchas enzimas incluyendo las RNA polimerasas, ATPasas, Kinasas proteicas, Fosfatasas, glutatión sintasa y carboxilasas, además es el catión divalente más abundante en el citosol (Shaul, 2002), esta puede ser la razón por la que en las unidades SPAD si haya diferencia y en la concentración de Mg no haya.



**Figura 21. Acumulación de magnesio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.**

Tanto la radiación UV-B como la UV-C mostraron una reducción en el contenido de calcio (Figura 22 y cuadro 6) en el tejido aéreo de plantas de tomate, este elemento es conocido por funcionar como segundo mensajero en las cascadas de señalización, Brosche y Strid (2003) lo implican como candidato en la señalización generada por la UV-B, además (Brosche y Strid 2003), mostraron en un experimento con cultivo de células que el nivel de calcio es elevado en las células con destellos con duración de milisegundos de radiación UV-B, lo anterior mencionado es contrario a lo encontrado en este experimento ya que la concentración de calcio disminuyó.

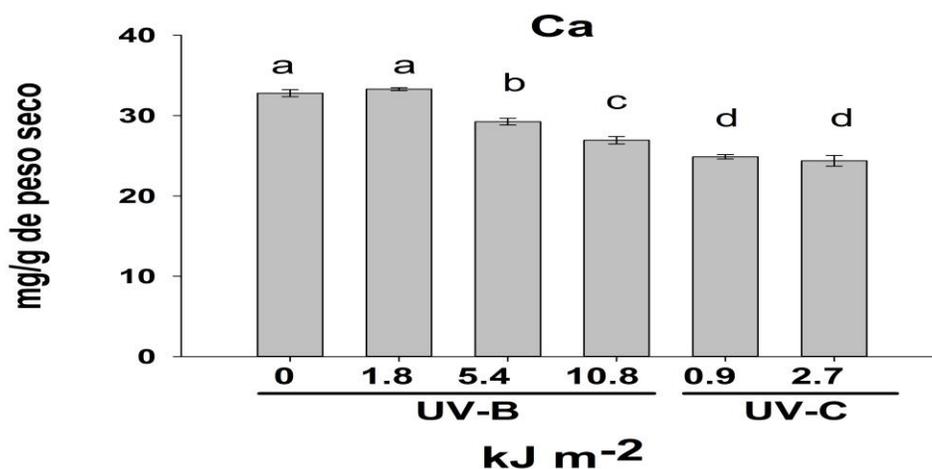


Figura 22. Acumulación de calcio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

Las respuestas de las plantas al sodio (Figura 23) son diversas, en este caso el único tratamiento que mostró una mayor acumulación de sodio en el tejido aéreo de tomate fue el de  $0.9 \text{ kJ m}^{-2}$  de UV-C, no existen reportes en la literatura acerca de efectos de la radiación UV en la absorción de este elemento, al parecer el estímulo UV-C favoreció la absorción de sodio, quizás provocó una modificación en los transportadores de potasio que son los que transportan el sodio también (Blumwald *et al.*, 2000).

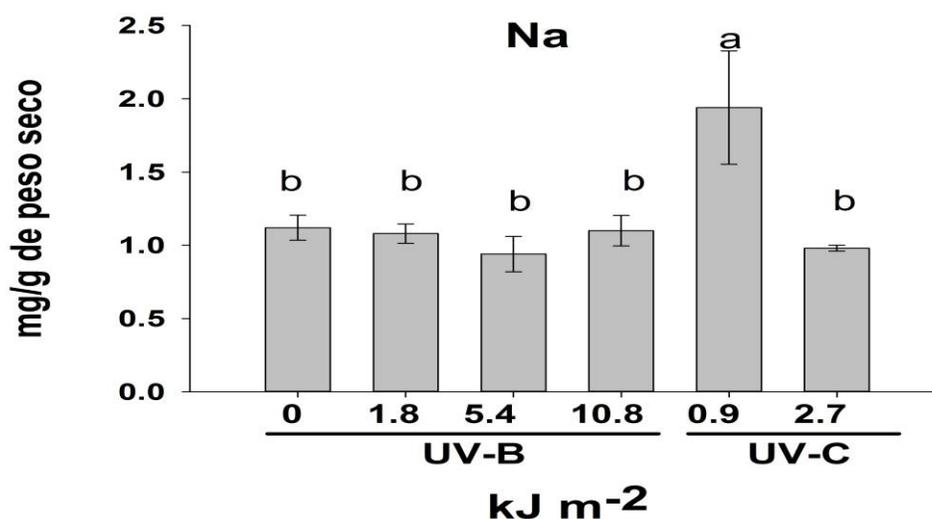


Figura 23. Acumulación de sodio en el tejido aéreo de plantas de tomate en relación a la energía UV-B y UV-C aplicada a la semilla.

## CONCLUSIONES

La irradiación de las semillas de tomate con UV-B en dosis de  $5.4 \text{ kJ m}^{-2}$  causó efectos positivos en la germinación y en la cantidad de plántulas normales obtenidas. Los efectos de la irradiación de las semillas se extendieron a las etapas posteriores de crecimiento de las plantas, disminuyendo las lecturas de unidades SPAD en las hojas y aumentando la densidad estomática del haz y disminuyendo la del envés, en la etapa llevada hasta floración disminuyó la concentración de calcio en el tejido aéreo.

La irradiación de las semillas de tomate con UV-C no presentó ningún efecto positivo en la germinación y el vigor. Sin embargo, las plantas obtenidas de semillas irradiadas mostraron aumento en la densidad estomática en el haz y disminución en la del envés, en la etapa llevada hasta floración disminuyó la concentración de calcio en tejido aéreo y aumentó la concentración de sodio.

Se demostró que es factible el uso de la irradiación de semillas con UV-B y UV-C como una herramienta biofísica para modificar el comportamiento fenotípico de las plantas de tomate.

## REFERENCIAS

- Agarwal, S. (2007). Increased antioxidant activity in Cassia seedlings under UV-B radiation. *Biologia plantarum*, 51(1), 157-160.
- A-H-Mackerness, S., Surplus, S. L., Jordan, B., & Thomas, B. (1998). Effects of Supplementary Ultraviolet-B Radiation on Photosynthetic Transcripts at Different Stages of Leaf Development and Light Levels in Pea (*Pisum sativum* L.): Role of Active Oxygen Species and Antioxidant Enzymes. *Photochemistry and photobiology*, 68(1), 88-96.
- Benavides-Mendoza, A., Garnica-Serna, J., Michtchenko, A., Hernández-Aguilar, C., Ramírez-Rodríguez, H., Hernández-Dávila, J., Robledo-Torres, V. (2003). Respuesta al estrés y crecimiento de plántulas cuyas semillas fueron irradiadas con láser de baja intensidad. *AGROFAZ* 3(1):269-272.
- Blumwald, E., Aharon, G. S., & Apse, M. P. (2000). Sodium transport in plant cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1), 140-151.
- Bornman, J. F., Barnes, P. W., Robinson, S. A., Ballare, C. L., Flint, S. D., & Caldwell, M. M. (2015). Solar ultraviolet radiation and ozone depletion-driven climate change: effects on terrestrial ecosystems. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(1), 88-107.
- Britt, A. B. (2004). Repair of DNA damage induced by solar UV. *Photosynthesis Research*, 81(2), 105-112.
- Brosche, M., & Strid, Å. (2003). Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants. *Physiologia Plantarum*, 117(1), 1-10.
- Brown, J. E., Lu, T.Y., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J., Wilson, C.L. & Droby, S. (2001). The effect of low dose ultraviolet light-C seed treatment on induced resistance in cabbage to black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*). *Crop Prot.* 20(10), 873-883.
- Caldwell, M. M., & Flint, S. D. (1993). Implications of increased solar UV-B for terrestrial vegetation. In *The role of the stratosphere in global change* (pp. 495-516). Springer Berlin Heidelberg.
- Caldwell, M. M., Robberecht, R., & Flint, S. D. (1983). Internal filters: prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiologia plantarum*, 58(3), 445-450.
- Carrasco, L. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *Idesia*. 27(3):59-76.
- Christie, J. M., Arvai, A. S., Baxter, K. J., Heilmann, M., Pratt, A. J., O'Hara, A. & Jenkins, G. I. (2012). Plant UVR8 photoreceptor senses UV-B by tryptophan-

- mediated disruption of cross-dimer salt bridges. *Science*, 335(6075), 1492-1496.
- Conconi, A., Smerdon, M. J., Howe, G. A., & Ryan, C. A. (1996). The octadecanoid signaling pathway in plants mediates a response to ultraviolet radiation.
- Coohill, T.P. (1989). Ultraviolet action spectra (280 nm to 380 nm) and solar effectiveness spectra for higher plants. *Photochem. Photobiol.* 50(4):451-457.
- Cory, R. M., Crump, B. C., Dobkowski, J. A., & Kling, G. W. (2013). Surface exposure to sunlight stimulates CO<sub>2</sub> release from permafrost soil carbon in the Arctic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3429-3434.
- Danon, A., & Gallois, P. (1998). UV-C radiation induces apoptotic-like changes in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS letters*, 437(1-2), 131-136.
- Davey, M. P., Susanti, N. I., Wargent, J. J., Findlay, J. E., Quick, W. P., Paul, N. D., & Jenkins, G. I. (2012). The UV-B photoreceptor UVR8 promotes photosynthetic efficiency in *Arabidopsis thaliana* exposed to elevated levels of UV-B. *Photosynthesis research*, 114(2), 121-131.
- Delibaltova, V., & Ivanova, R. (2006). Impact of the pre sowing irradiation of seeds by He-Ne laser on the dynamics of development of cotton varieties. *J Environ Prot. Ecol*, 7, 909-917.
- Demkura, P. V., & Ballaré, C. L. (2012). UVR8 mediates UV-B-induced Arabidopsis defense responses against *Botrytis cinerea* by controlling sinapate accumulation. *Molecular plant*, 5(3), 642-652.
- Diffey, B. L. (2002). Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, 28(1), 4-13.
- Eisinger, W. R., Bogomolni, R. A., & Taiz, L. (2003). Interactions between a blue-green reversible photoreceptor and a separate UV-B receptor in stomatal guard cells. *American Journal of Botany*, 90(11), 1560-1566.
- Favory, J. J., Stec, A., Gruber, H., Rizzini, L., Oravec, A., Funk, M., & Seidlitz, H. K. (2009). Interaction of COP1 and UVR8 regulates UV-B-induced photomorphogenesis and stress acclimation in Arabidopsis. *The EMBO Journal*, 28(5), 591-601.
- Foroughbakhch-Pournavab, R., Bacópulos-Mejía, E., & Benavides-Mendoza, A. (2015). Efecto de la irradiación con UV-C en la germinación y vigor de tres especies vegetales. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(5), 129-137.
- Frohnmeier, H., & Staiger, D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant physiology*, 133(4), 1420-1428.

- González-Aguilar, G. A., Zavaleta-Gatica, R., & Tiznado-Hernández, M. E. (2007). Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*, *45*(1), 108-116.
- Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Gerhardt, K. E., & Wilson, K. E. (1996). Morphological and physiological responses of *Brassica napus* to ultraviolet-B radiation: photomodification of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Journal of plant physiology*, *148*(1), 78-85.
- Gruber, H., Ulm, R., & Heijde, M. (2009). Regulation of UV-B-induced photomorphogenesis in Arabidopsis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *153*(2), S200.
- Heijde, M., & Ulm, R. (2012). UV-B photoreceptor-mediated signaling in plants. *Trends in plant science*, *17*(4), 230-237.
- Heijde, M., & Ulm, R. (2013). Reversion of the Arabidopsis UV-B photoreceptor UVR8 to the homodimeric ground state. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(3), 1113-1118.
- Heilmann, M., & Jenkins, G. I. (2013). Rapid reversion from monomer to dimer regenerates the ultraviolet-B photoreceptor UV RESISTANCE LOCUS8 in intact Arabidopsis plants. *Plant physiology*, *161*(1), 547-555.
- Hidema, J., & Kumagai, T. (2006). Sensitivity of rice to ultraviolet-B radiation. *Annals of Botany*, *97*(6), 933-942.
- Hollosoy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, *33*(2), 179-197.
- Howell, T. A., Meek, D. W., & Hatfield, J. L. (1983). Relationship of photosynthetically active radiation to shortwave radiation in the San Joaquin Valley. *Agricultural Meteorology*, *28*(2), 157-175.
- Jansen, M. A., Hectors, K., O'Brien, N. M., Guisez, Y., & Potters, G. (2008). Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? *Plant Science*, *175*(4), 449-458.
- Jean Molinier; Ries, G., Zipfel, C., & Hohn, B. (2006). Transgeneration memory of stress in plants. *Nature*, *442*(7106), 1046-1049.
- Jenkins, G. I. (2008). Environmental regulation of flavonoid biosynthesis. *Health Benefits of Organic Food: Effects of the Environment*, 240-262.
- Jenkins, G.I. (2009). Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annu. Rev. Plant Biol.* *60*: 407–431.

- Kacharava, N., Chanishvili, S., Badridze, G., Chkhubianishvili, E., & Janukashvili, N. (2009). Effect of seed irradiation on the content of antioxidants in leaves of Kidney bean, Cabbage and Beet cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 3(3), 137.
- Kaiserli, E., & Jenkins, G. I. (2007). UV-B promotes rapid nuclear translocation of the Arabidopsis UV-B-specific signaling component UVR8 and activates its function in the nucleus. *The Plant Cell*, 19(8), 2662-2673.
- Kami, C., Lorrain, S., Hornitschek, P., & Fankhauser, C. (2010). Chapter two-light-regulated plant growth and development. *Current topics in developmental biology*, 91, 29-66.
- Kataria, S., Jain, K., & Guruprasad, K. N. (2007). UV-B induced changes in antioxidant enzymes and their isoforms in cucumber (*Cucumis sativus* L.) cotyledons. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 44, 31-37.
- Kliebenstein, D. J., Lim, J. E., Landry, L. G., & Last, R. L. (2002). Arabidopsis UVR8 regulates ultraviolet-B signal transduction and tolerance and contains sequence similarity to human regulator of chromatin condensation 1. *Plant Physiology*, 130(1), 234-243.
- Kossuth, S. V., & Biggs, R. H. (1981). Ultraviolet-B radiation effects on early seedling growth of Pinaceae species. *Canadian Journal of Forest Research*, 11(2), 244-249.
- Kumari, R., Singh, S., & Agrawal, S. B. (2010). Response of ultraviolet-B induced antioxidant defense system in a medicinal plant, *Acorus calamus*. *Journal of Environmental Biology*, 31(6), 907-911.
- Kusano, M., Tohge, T., Fukushima, A., Kobayashi, M., Hayashi, N., Otsuki, H. & Niida, R. (2011). Metabolomics reveals comprehensive reprogramming involving two independent metabolic responses of Arabidopsis to UV-B light. *The Plant Journal*, 67(2), 354-369.
- Landry, L. G., Chapple, C. C., & Last, R. L. (1995). Arabidopsis mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant physiology*, 109(4), 1159-1166.
- Long, R. L., Gorecki, M. J., Renton, M., Scott, J. K., Colville, L., Goggin, D. E. & Finch-Savage, W. E. (2015). The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. *Biological Reviews*, 90(1), 31-59.
- Luckey, T. D. (1980). *Hormesis with ionizing radiation* (p. 222). Boca Raton, FL: CRC press.

- Madronich, S., McKenzie, R. L., Björn, L. O., & Caldwell, M. M. (1998). Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 46(1), 5-19.
- Magliano, T. A., & Casal, J. J. (2004). Pre-germination seed–phytochrome signals control stem extension in dark-grown Arabidopsis seedlings. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 3(6), 612-616.
- McKenzie, R. L., Aucamp, P. J., Bais, A. F., Björn, L. O., & Ilyas, M. (2007). Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6(3), 218-231.
- McKenzie, R. L., Björn, L. O., Bais, A., & Ilyas, M. (2003). Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2(1), 5-15.
- Moïse, J. A., Han, S., Gudynaitė-Savitch, L., Johnson, D. A., & Miki, B. L. (2005). Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 41(5), 620-644.
- Morales, L. O., Brosché, M., Vainonen, J., Jenkins, G. I., Wargent, J. J., Sipari, N. & Aphalo, P. J. (2013). Multiple roles for UV RESISTANCE LOCUS8 in regulating gene expression and metabolite accumulation in Arabidopsis under solar ultraviolet radiation. *Plant Physiology*, 161(2), 744-759.
- Musil, C. F., Newton, R. J., & Farrant, J. M. (1998). Ultraviolet irradiation effects on serotinous shape Leucadendron laeolium seeds: altered seed physiology and ultrastructure, and seedling performance. *Plant ecology*, 139(1), 25-34.
- Nawkar, G. M., Maibam, P., Park, J. H., Sahi, V. P., Lee, S. Y., & Kang, C. H. (2013). UV-induced cell death in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(1), 1608-1628.
- Paul, N. D., & Gwynn-Jones, D. (2003). Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(1), 48-55.
- Piacentini, R. D., Salum, G. M., Fraidenraich, N., & Tiba, C. (2011). Extreme total solar irradiance due to cloud enhancement at sea level of the NE Atlantic coast of Brazil. *Renewable Energy*, 36(1), 409-412.
- Predieri, S., Norman, H. A., Krizek, D. T., Pillai, P., Mirecki, R. M., & Zimmerman, R. H. (1995). Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in 'Doyenne d'Hiver' pear shoots grown in vitro under different photosynthetic photon fluxes. *Environmental and Experimental Botany*, 35(2), 151-160.
- Promyou, S., & Supapvanich, S. (2012). Effect of ultraviolet-C (UV-C) illumination on postharvest quality and bioactive compounds in yellow bell pepper fruit

- (*Capsicum annuum* L.) during storage. *African Journal of Agricultural Research*, 7(28), 4084-4096.
- Rao, M. V., Paliyath, G., & Ormrod, D. P. (1996). Ultraviolet-B-and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology*, 110(1), 125-136.
- Rastogi, R. P., Kumar, A., Tyagi, M. B., & Sinha, R. P. (2010). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of nucleic acids*, 2010.
- Ristilä, M., Strid, H., Eriksson, L. A., Strid, Å. & Sävenstrand, H. (2011). The role of the pyridoxine (vitamin B 6) biosynthesis enzyme PDX1 in ultraviolet-B radiation responses in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(3), 284-292.
- Rizzini, L., Favory, J. J., Cloix, C., Faggionato, D., O'Hara, A., Kaiserli, E. & Ulm, R. (2011). Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science*, 332(6025), 103-106.
- Mendoza, M. D. L. N. R., González, G. A., Santelises, A. A., Barra, J. D. E., & Rincón, J. A. S. (1998). Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra*, 16(2).
- Ruiz-López, G. A., Qüesta, A. G., & Rodríguez, S. D. C. (2010). Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11, 101-108.
- Sayre, R. M., Dowdy, J. C., Shepherd, J., Sadiq, I., Baqer, A., & Kollias, N. (1999). Vitamin D-vs-erythema: effects of solar angle & artificial sources. In *Biologic Effects of Light 1998* (pp. 149-152). Springer US.
- Schmelzer, E., Jahnen, W., & Hahlbrock, K. (1988). In situ localization of light-induced chalcone synthase mRNA, chalcone synthase, and flavonoid end products in epidermal cells of parsley leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(9), 2989-2993.
- Searles, P. S., Caldwell, M. M., & Winter, K. (1995). The response of five tropical dicotyledon species to solar ultraviolet-B radiation. *American Journal of Botany*, 445-453.
- Shaul, O. (2002). Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *Biometals*, 15(3), 307-321.
- Shinkle, J. R., Atkins, A. K., Humphrey, E. E., Rodgers, C. W., Wheeler, S. L., & Barnes, P. W. (2004). Growth and morphological responses to different UV wavebands in cucumber (*Cucumis sativum*) and other dicotyledonous seedlings. *Physiologia Plantarum*, 120(2), 240-248.

- Soheila, A. H. (2000). Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators? *Plant Growth Regulation*, 32(1), 27-39.
- Sosa-Flores, V. P., Ramírez-Godina, F., Benavides-Mendoza, A., & Ramírez, H. (2014). Study of morphological and histological changes in melon plants grown from seeds irradiated with UV-B. *Journal of Applied Horticulture*, 16(3), 199-204.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2), 134-154.
- Stracke, R., FAVORY, J. J., Gruber, H., Bartelniewoehner, L., Bartels, S., Binkert, M. & Ulm, R. (2010). The Arabidopsis bZIP transcription factor HY5 regulates expression of the PFG1/MYB12 gene in response to light and ultraviolet-B radiation. *Plant, cell & environment*, 33(1), 88-103.
- Strid, Å., Chow, W. S., & Anderson, J. M. (1990). Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1020(3), 260-268.
- Surplus, S. L., Jordan, B. R., Murphy, A. M., Carr, J. P., Thomas, B., & Mackerness, S. (1998). UV-B induced responses in *Arabidopsis thaliana*: role of salicylic acid and ROS in the regulation of transcripts and acidic PR proteins. *Plant Cell Environ*, 21, 685-694.
- Takahashi, S., Milward, S. E., Yamori, W., Evans, J. R., Hillier, W., & Badger, M. R. (2010). The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant physiology*, 153(3), 988-993.
- Tilbrook, K., Arongaus, A. B., Binkert, M., Heijde, M., Yin, R., & Ulm, R. (2013). The UVR8 UV-B photoreceptor: perception, signaling and response. *The Arabidopsis Book*, e0164.
- Troy, T. L., & Thennadil, S. N. (2001). Optical properties of human skin in the near infrared wavelength range of 1000 to 2200 nm. *Journal of biomedical optics*, 6(2), 167-176.
- Vu, C. V., Allen, L. H., & Garrard, L. A. (1984). Effects of enhanced UV-B radiation (280–320 nm) on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in pea and soybean. *Environmental and Experimental Botany*, 24(2), 131-143.
- Wargent, J. J., Gegas, V. C., Jenkins, G. I., Doonan, J. H., & Paul, N. D. (2009). UVR8 in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *New Phytologist*, 183(2), 315-326.

- Wargent, J.J., and Jordan, B.R. (2013). From ozone depletion to agriculture: understanding the role of UV radiation in sustainable crop production. *New Phytol.* 197: 1058-1076.
- Wargent, J. J., Gegas, V. C., Jenkins, G. I., Doonan, J. H., & Paul, N. D. (2009). UVR8 in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *New Phytologist*, 183(2), 315-326.
- Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 218-223.
- Wu, D., Hu, Q., Yan, Z., Chen, W., Yan, C., Huang, X. & Deng, X. (2012). Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. *Nature*, 484(7393), 214-219.