

**LA IRRADIACIÓN DE SEMILLAS DE MELÓN
(*Cucumis melo L.*) CON UV-B CAUSA MODIFICACIONES
MORFOLÓGICAS E HISTOLÓGICAS EN LAS PLANTAS**

VIVIANA PAOLA SOSA FLORES

TESIS

**Presenta como requisito parcial para
obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio del 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

La irradiación de semillas de melón (*Cucumis melo L.*) con UV-B causa modificaciones morfológicas e histológicas en las plantas

Por

Viviana Paola Sosa Flores

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:

Dra. Francisca Ramírez Godina

Asesor:

Dr. Homero Ramírez Rodríguez

Asesor:

Dr. Valentin Robledo Torres

Asesor:

Dr. Mario Vázquez Badillo

Dr. Fernando Ruiz Zarate
Subdirector de Posgrado

Saltillo, Coahuila, México, Junio del 2014

DEDICATORIAS

A mis padres Miguel Sosa y Dora Elía Flores por apoyarme y ser el motivo de mi superación.

A mis hermanas Mónica y Mayra.

A Oscar A. Piña por brindarme su compañía, cariño y fortaleza en los momentos difíciles.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado durante mi formación.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza por la oportunidad que me brindó al permitirme colaborar en este proyecto.

A la Dra. Francisca Ramírez Godina por su disponibilidad, accesibilidad y dirección oportuna.

A los Doctores Homero Ramírez Rodríguez, Valentín Robledo Torres y Mario Vázquez Badillo por las sugerencias, comentarios y recomendaciones encaminadas a mejorar el trabajo de investigación.

A la técnica académica del Laboratorio de Citogenética, Norma Leticia Portos Gaona por la capacitación otorgada para lograr las preparaciones histológicas.

A la M. C Hermila García por su asesoría, disponibilidad y sugerencias.

LA IRRADIACIÓN DE SEMILLAS DE MELÓN (*CUCUMIS MELO L.*) CON UV-B CAUSA MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS E HISTOLÓGICAS EN LAS PLANTAS

Por

Viviana Paola Sosa Flores

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

Dr. Adalberto Benavides Mendoza – Asesor–

Palabras clave: Irradiancia, fotoreceptores, señalización, irradiación de la semilla, pre-acondicionamiento, *Cucumis melo*.

Se sabe que la exposición de plántulas o plantas a la radiación UV-B induce cambios en la expresión génica que resultan en modificaciones bioquímicas y morfológicas. Sin embargo, existe poca información sobre los efectos y la utilidad potencial de la irradiación de semillas con UV-B. El objetivo de este estudio fue verificar el impacto sobre el crecimiento y la morfología de la planta al irradiar la semilla de melón (*Cucumis melo*) utilizando distintas dosis de UV-B 0, 99, 198 y 297 mJ/cm². Se utilizó semilla de melón cantaloupe

variedad 'Topmark', la cual se expuso a irradiación UV con una longitud de onda centrada en 302 nm. Las semillas se sembraron en sustrato peat moss y perlita en invernadero. Se realizaron tres muestreos en los cuales se evaluaron los siguientes parámetros morfológicos: la altura de planta, el diámetro del tallo, el número de hojas, y el área foliar, además peso fresco y seco. Se revisaron algunas variables de la morfología epidérmica incluyendo la frecuencia estomática, el índice estomático, el largo y ancho de estomas. Las variables evaluadas en el estudio histológico de tallo fueron, área del haz vascular, área de vasos de xilema, ancho y largo de haces vasculares área del lumen de vasos de xilema y número de vasos de xilema. El análisis de varianza encontró diferencias significativas ($P \leq 0.005$) entre tratamientos, determinando que la dosis de 99 mJ/cm^{-2} de exposición a radiación UV-B produjo 24.87 y 32.42% mayor biomasa fresca y seca respectivamente. En la superficie adaxial de la hoja el índice estomático sufrió variaciones observándose un incremento del 52.26, 7.14 y 13.55 % respecto al testigo en los tratamientos de 99, 198 y 297 mJ/cm^{-2} y la longitud de estomas fue un 6.99 % mayor en el 198 mJ/cm^{-2} . Por su parte la frecuencia estomática no fue modificada por la exposición a la radiación. La irradiación de las semillas causó disminución en el contenido de P, Ca y Na en las hojas de las plantas

**Study of morphological and histological changes in melon plants grown
from seeds irradiated with UV-B**

by

Viviana Paola Flores Sosa

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro

Dr. Adalberto Mendoza Benavides - Advisor-

Keywords: Irradiance, photoreceptors, signaling, seed irradiation, seed priming, *Cucumis melo*.

Abstract

Is well known that exposure of plant seedlings or plants to UV-B radiation induces changes in gene expression resulting in biochemical and morphological modifications. However, there is little information on the effects and potential utility of irradiation of seeds with UV-B. The aim of this study was to apply UV-B radiation in melon seeds using various irradiation times and then assess the effect on growth and morphology of the plant. Seeds of cultivar 'Topmark' were exposed to UV irradiation with wavelength centered at 302 nm, for periods of 0, 15, 30 and 45 minutes (UV dosages of 0, 99, 198 and 297 mJ cm⁻², respectively). The irradiated seeds were seeded in a mixture of peat moss and

perlite for greenhouse germination. Morphological parameters such as plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, fresh and dry weights were evaluated. Stomatal frequency, stomatal index, and length and width of stomata were studied. Histological analyses were conducted to determine the areas of the stem vascular bundle and xylem vessels, width and length of vascular bundles, and the area of the lumen of xylem vessels. The analysis of variance indicated significant differences between treatments, with the treatment of 15 minutes (99 mJ cm^{-2}) of seed exposure to UV-B radiation generating 24.87 and 32.42 % more fresh and dry weight of the plants, respectively. Stomatal index was augmented on the adaxial surface by 52.26, 7.14 and 13.55 %, in the treatments of 99, 198 and 297 mJ cm^{-2} , respectively, in contrast with the control treatment, while the length of stomata was increased by 6.99% in the treatment with 30 minutes exposure time (198 mJ cm^{-2}). Stomatal frequency was unchanged by exposure to radiation. The irradiation of the seeds caused decrease in P, Ca and Na in the leaves of plants.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos.....	3
Hipótesis	4
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1.-Percepción de la Radiación Electromagnética por las Semillas	5
2.- UV-B Regulación Específica.....	6
3.- UV-B Regulador del Metabolismo Secundario.....	8
4.- Transducción de Señales en Respuesta a UV-B.....	13
5.-Proteína UVR8, Reguladora de Genes para la Protección a la Radiación UV-B.	17
5.1.-COP1: Regulador de las Respuestas a UV-B	20
5.2.- HY5	21
5.3.-HYH.....	22
ARTÍCULO	23
III.- CONCLUSIONES GENERALES.....	43
IV.- LITERATURA CITADA	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vías de transducción de señales de UV-B.....	14
Figura 2. Las plantas detectan UV-B con el fotoreceptor UVR8.	16
Figura 3. Fresh biomass of melon plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B; results from three samples. Bars indicate standard error range.....	32
Figura 4. Adaxial epidermal impressions of plants grown from seeds irradiated with UV-B dose of 99 mJ cm ⁻² (A) and 297 mJ cm ⁻² (B). Epidermal abaxial leaf imprints from plants grown from seed exposed to UV-B dose of 99 mJ cm ⁻² (C) and 297 mJ cm ⁻² (D). 40X objective.....	34
Figura 5. Vascular bundles of the first internode of plants grown from seeds irradiated with UV-B. A) Dose 198 mJ cm ⁻² . B and C) Dose 297 mJ cm ⁻² . 10X objective. Bar 100 μm.	36
Figura 6. Vascular bundles of the fourth internode of plants obtained from UV-B irradiated seeds A) Dose 0 mJ cm ⁻² . Bar 100 μm, 5X objective. B) Dose 99 mJ cm ⁻² . Bar 50 μm, 10X objective. C) Number of xylem vessels treated with 297 mJ cm ⁻² . Bar 50 μm, 10X objective..	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Effect of irradiation of melon seeds with UV-B on plant morphological variables.	31
Tabla 2. Mean values of variables of foliar epidermal morphology of plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B.	33
Tabla 3. Characteristics of the histological structure of the vascular bundles of the stem of plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B. Samples were obtained from the first and fourth internodes.	35
Tabla 4. Averaged foliar mineral concentrations in melon plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B.	38

I.- INTRODUCCIÓN

La radiación solar es uno de los principales factores ambientales que afectan la vida en nuestro planeta. La irradiancia UV en la superficie de la Tierra varía según la estación, la hora del día, la latitud, la altitud, el espesor de la capa de ozono y el estado del tiempo. Dependiendo de su longitud de onda la radiación se clasifica en tres diferentes clases la UV-A (400-320 nm), la UV-B (320-290 nm) y la UV-C (280-200 nm). La UV-C normalmente no llega a la biosfera ya que es absorbida por el O₂/O₃ en la estratósfera. Normalmente la UV-B se recibe en muy poca cantidad en la biósfera, mientras que la más abundante es la UV-A. La radiación ultravioleta B (UV-B; 280-320 nm) comprende una pequeña fracción de la radiación solar total que llega a la superficie de la Tierra, sin embargo, la exposición a los rayos UV-B a temperatura ambiente o diversos niveles, se sabe que producen una variedad de respuestas en las plantas superiores (Bornman y Teramura 1993; Krizek *et al.*, 1993; Kacharava *et al.*, 2009; Carrasco, 2009). Estas respuestas incluyen las que generalmente se consideran como resultado de daño celular por ejemplo, la inhibición parcial de la fotosíntesis (Bergo *et al.*, 2003), así como los que suelen interpretarse como no dañinos o fotomorfogénicos por ejemplo, la inducción de compuestos de absorción de UV, tales como flavonoides y

compuestos fenólicos (Kacharava *et al.*, 2009; Neugart *et al.*, 2012) y la inhibición del alargamiento del hipocótilo en plántulas (Shinkle *et al.*, 2004; Brown *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 1998).

Los primeros estudios realizados en relación al efecto de la radiación UV-B en plantas (1980 a 2000), se enfocaron en los efectos negativos, como el retraso en el crecimiento, daño macroscópico y estrés oxidativo, sin embargo esta apreciación ha cambiado debido a nuevos conocimientos acerca de efectos importantes en la regulación específica de procesos metabólicos. Una serie de estudios de expresión génica ha demostrado que las plantas pueden detectar y responder a la radiación UV-B a través de cambios en los patrones de transcripción que son distintos a los inducidos por estrés (Jansen y Bornman 2012).

Los niveles no dañinos de radiación pueden inducir respuestas transcripcionales y se ha postulado que estos son mediados por un fotorreceptor de la radiación UV-B denominado UV8 (Jenkins, 2009), el cual regula la expresión de los elementos clave para la aclimatación a este tipo de radiación, incluyendo la síntesis de enzimas de la ruta fenilpropanoide, fotoliasas y varias enzimas (Eichholz, 2012), implicadas en la tolerancia al estrés oxidativo (Favory *et al.*, 2009). El descubrimiento del fotorreceptor UV8 muestra claramente que las plantas también utilizan la radiación UV-B como señal del medio ambiente, específicamente al percibir niveles bajos de radiación con el fin de regular la defensa y la capacidad de reparación (Jenkins, 2009; Heijde y Ulm, 2012). Es importante destacar que la exposición a los bajos

niveles, no dañinos, de la radiación UV-B tiene numerosos efectos reguladores sobre la morfología de la planta, desarrollo, fisiología, bioquímica y composición (Caldwell *et al.*, 2003; Brosche y Strid, 2003; Frohnmeyer y Staiger, 2003). Por lo anterior se planteó el siguiente objetivo:

Objetivo General

Determinar el efecto de la irradiación de la semilla de melón (*Cucumis melo* L.) con diferentes dosis de irradiación ultravioleta-B sobre el crecimiento, morfología e histología de las plantas.

Objetivos Específicos

- Documentar la respuesta del crecimiento y la morfología de las plántulas al irradiar las semillas de melón con diferentes dosis de radiación ultravioleta-B.
- Identificar las estructuras anatómicas en las cuales se observan modificaciones al irradiar las semillas de melón con diferentes dosis de radiación ultravioleta-B.

Hipótesis

Los receptores ultravioleta-B de la semilla inducen cambios en la expresión génica que resulta en diferencias morfológicas y anatómicas de las plantas.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

1.-Percepción de la Radiación Electromagnética por las Semillas

Las señales de la radiación electromagnética son recibidos por fotoreceptores que las invierten a estímulos internos, que a su vez regulan procesos fisiológicos en semillas (Seo *et al*, 2008). Los radicales libres producidos por la irradiación UV de semillas producen un cambio en la permeabilidad de la membrana de las células y el potencial eléctrico, presumiblemente iniciando respuestas metabólicas diversas incluyendo biosíntesis de antioxidantes (Kacharava, 2009). Algunos factores de estrés pueden estimular biosíntesis de antioxidantes, y por esto mejorar el valor de los productos agrícolas. El tratamiento pre-siembra de semillas con alta energía (rayos X, láser, UV) se utiliza con eficacia para aumentar la productividad de los cultivos (Delibaltova e Ivanova, 2006). Aunque la influencia de la radiación UV en las plantas se ha investigado intensamente, existe poca atención al efecto en las semillas y las respuestas que genera este estímulo en plantas adultas. La sensibilidad de las plantas a radiación UV difiere no sólo en especie, sino también a nivel de sub-especie (Janukashvili *et al.*, 2001). La región de la UV, procedente del sol, comprende el intervalo de longitudes de onda de 100 a 400

nanómetros (nm) y se divide en tres bandas: UV-A (315 – 400 nm), UV-B (280–315 nm) y UV-C (100 – 250 nm).

2.- UV-B Regulación Específica

La radiación UV-B (280-320 nm) es un componente integral de la luz del sol. La radiación UV-B puede causar daños a las macromoléculas, incluyendo el ADN, y genera especies reactivas de oxígeno. Debido a que la radiación UV-B afecta el crecimiento, el desarrollo, la reproducción y la supervivencia de muchos organismos, existe la preocupación de que los nuevos aumentos de niveles ambientales de UV-B, como resultado de la disminución del ozono estratosférico pueden tener un impacto significativo sobre los ecosistemas naturales y agrícolas (Caldwell *et al.*, 2003;). Por lo tanto, es importante entender cómo las plantas y otros organismos se protegen contra los efectos potencialmente dañinos de la radiación UV-B.

Los efectos de la UV-B sobre diversas especies de plantas han sido reportados en la literatura, y es evidente que las diferentes respuestas se observaron en diferentes tasas de flujo de UV-B (Brosche y Strid, 2003; Frohnmeyer y Staiger, 2003). La exposición a altas cantidades de UV-B causa necrosis de los tejidos e induce la expresión genes asociados a estrés, en parte, a través de la activación de la vía de defensa ante patógenos y otras vías de señalización (Brosche y Strid, 2003; Mackerness, 2001).

Es importante destacar que la exposición a niveles bajos, no dañinos, de la radiación UV-B tiene numerosos efectos reguladores sobre la morfología de la planta, desarrollo, fisiología, bioquímica y composición (Caldwell *et al.*, 2003; Brosche y Strid, 2003; Frohnmeyer y Staiger, 2003; Jansen, 1998). Las bajas tasas de fluencia de UV-B promueven la expresión de una serie de genes implicados en la protección a UV-B (Brosche y Strid, 2003, Frohnmeyer y Staiger, 2003; Ulm, 2004). Estos incluyen genes relacionados con la producción de flavonoides y otros compuestos fenólicos que se acumulan en las capas de la epidermis y proporcionan una protección absorbente a la radiación UV solar (Li *et al.*, 1993). Otros genes inducidos por UV-B están involucrados, por ejemplo, en la mitigación del estrés oxidativo y la reparación de los daños causados por UV. Los mutantes que carecen de componentes de protección UV, tales como los flavonoides y ésteres de ácido sináptico, son muy sensibles a los niveles ambientales de la radiación UV-B (Li *et al.*, 1993; Landry *et al.*, 1995). Aunque la respuesta de las plantas a las bajas tasas de flujo ambiental de UV-B son clave para la supervivencia, los mecanismos subyacentes de percepción de UV-B y transducción de señales son muy poco conocidas, a pesar de décadas de investigación. Algunos enfoques fisiológicos, celulares y genéticos han proporcionado algunas ideas sobre los procesos de transducción de señales (Frohnmeyer *et al.*, 1995; Suesslin y Frohnmeyer, 2003), pero no se ha definido una vía de señalización específica para la radiación UV-B. Por lo tanto, la comprensión de los mecanismos de respuesta de las plantas a la UV-B está muy por detrás de los conocimientos de las respuestas mediadas por la luz visible.

3.- UV-B Regulador del Metabolismo Secundario

Una comprensión básica de la percepción y las respuestas a la radiación con UV-B permiten abrir nuevas oportunidades para la manipulación de los cultivos. Por lo tanto, tratamientos con baja dosificación de UV-B se pueden utilizar como tecnología emergente para generar frutas, hortalizas, plantas medicinales o de importancia para la industria enriquecidos con metabolitos secundarios, ya sea para consumo en fresco. La respuesta a los rayos UV-B depende de la naturaleza del tratamiento UV-B, en la medida de la adaptación y la aclimatación a los rayos UV-B, y la interacción con otros factores ambientales.

La radiación UV -B solar juega un papel importante como modulador positivo de la defensa de la planta. Dosis ecológicamente significativas de radiación UV-B incrementó la resistencia de *Arabidopsis* al hongo necrotrófico *Botrytis cinérea* este efecto es mediado por el fotoreceptor UVR8 (Demkura y Ballare, 2012).

Kacharava *et al.*, (2009) estudiaron los efectos de la exposición de las semillas a la radiación UV antes de la siembra, determinando el efecto en el contenido de antioxidantes en las hojas de las plantas experimentales desarrolladas a partir de las semillas irradiadas y el crecimiento fisiológico (altura, la biomasa, la actividad fotosintética de las hojas, la cantidad de pigmentos de plástidos y proteínas totales). El tratamiento de semillas con dosis

bajas de UV (460 a 760 W/cm⁻² para 30, 60 y 90 min) provocó aumento en contenido de ácido ascórbico (32 a 35%) en las hojas de variedades de frijol. Las dosis aplicadas de UV mejoraron significativamente la cantidad de tocoferol en las hojas de dos variedades de frijol (2 a 4 veces y más), y la remolacha blanca (5 a 9 veces). El tratamiento UV a las semillas estimula la síntesis de antocianinas en las hojas de las variedades de frijol (3 a 6%) y remolacha (14 a 21 %). En el caso de la col y remolacha roja dosis bajas de irradiación fueron eficaces (9 a 20 %). Llegaron a la conclusión de que la irradiación UV de semillas estimula mecanismos de adaptación de estrés en las plantas. Estos efectos, sin embargo, dependen de la intensidad de la irradiación, también de la especie de plantas y sus variedades. El tratamiento de semillas con dosis óptimas de irradiación UV puede utilizarse para la estimulación de la síntesis de antioxidantes en las plantas y mejorar su valor nutricional y la tolerancia a los factores de estrés ambiental.

Yuan *et al.*, (2009), estudiaron los efectos de la radiación UV-B suplementaria en *Taxus chinensis* var. *mairei*. En dicho experimento determinaron que la radiación UV-B redujo de manera significativa el área foliar, el número de hojas, peso de las hojas por planta y la humedad foliar aumentaron drásticamente, sin embargo ni el peso de las hojas, ni el peso específico de las hojas (SLW) mostraron una diferencia significativa entre la radiación UV-B ambiental y mejorada. Los parámetros de intercambio de gases se redujeron drásticamente todo por un aumento de la radiación UV-B. El contenido de clorofila y la relación clorofila a/b no fueron afectados claramente

por la radiación UV-B, mientras que el contenido carotenoides disminuyó significativamente. El tratamiento suplementario con UV-B indujo la acumulación de flavonoides de forma significativa, que era capaz de proteger a la planta de daño por radiación. Mientras tanto, la densidad estomática abaxial y el contenido de partículas en las cámaras sub-estomáticas aumentó notablemente por la radiación UV-B suplementaria, mientras que el tamaño de la abertura de los estomas solo fue disminuida. Estos resultados demostraron que *T. chinensis* var. *mairei* puede activar varios mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo causado por la radiación UV-B suplementaria.

Un nuevo tratamiento utilizando la radiación ultravioleta -B (UV -B) en hojas de *Ginkgo biloba* investigó la posibilidad de enriquecer sus compuestos relacionados con la salud. Este estudio tuvo como objetivo cuantificar e identificar los metabolitos secundarios implicados en la respuesta a la radiación UV-B en las hojas de Ginkgo recién recogidas. Las hojas se colocan en el dispositivo de inducción a radiación UV-B con una intensidad de 82.90 mW cm^{-2} . Después de la irradiación, se cuantificaron compuestos extraíbles con metanol utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante la medición de cambio de la concentración de flavonoides. Las hojas más jóvenes (abril) y el tiempo de radiación moderada (120 min) mostraron claro aumento en el contenido de flavonoides (con un aumento de hasta un 56 %). Además, Gb1 compuesto que se cree desencadena respuesta defensiva llamado 3 - (4' - hidroxifenil) - 1 - tiol - 2 - propileno mostró un incremento significativo en las hojas tratadas con UV-B .Estos resultados muestran que el tiempo de

irradiación con UV-B, la edad de la hoja, así como fitoquímicos específicos fueron factores clave que influyeron en el cambio de metabolismo secundario. El uso de UV-B puede ser un método novedoso y procesamiento factible para aumentar los compuestos benéficos para la salud. Un factor crítico es el de establecer el tiempo óptimo de inducción con UV-B. Por ejemplo, en nuestro estudio de aplicación de 120 minutos de irradiación aumentó la concentración total de flavonoides hasta 56% en comparación con el control. El segundo factor es la selección de la adecuada etapa de desarrollo de las hojas. Con respecto a la edad del tejido, las hojas viejas son a menudo menos sensibles a los rayos UV-B que las hojas jóvenes, y estas pueden construir mecanismos de protección contra las radiaciones nocivas rápidamente. Por lo tanto, se deben tomar estos dos factores en cuenta al diseñar procesos que permitan estimular la concentración de fitoquímicos en los productos de la naturaleza.

Hay muchos informes sobre las posibles consecuencias de la radiación UV-B en las plantas, pero hay una limitada comprensión del efecto sobre los metabolitos secundarios de las plantas, por ejemplo, compuestos fenólicos y compuestos volátiles. La popularidad de los arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) se debe principalmente a su singular sabor y su alto contenido de compuestos bioactivos, es decir, compuestos fenólicos. Sin embargo, la información sobre UV -B como inductora de cambios en los metabolitos secundarios de las plantas de arándanos es escasa. Eichholz *et al.*, (2011), estudiaron, las frutas de arándanos, las cuales cosecharon y se expusieron a la radiación UV -B con diferentes dosis. Con respecto a los metabolitos

secundarios volátiles, C6 -aldehídos, terpenos y cetonas mostraron un aumento después de los tratamientos con UV-B (0.075 y 0.15 Wh /m² = Baja y altas dosis, respectivamente). Además, hubo una fuerte influencia del tiempo de exposición en el contenido de estos metabolitos. Los picos se determinaron después de un corto tiempo de adaptación (2 h) tanto a altas y bajas dosis de UV -B, pero después de 24 h de tiempo de irradiación los picos de concentración disminuyeron significativamente. Sin embargo, los compuestos alcohólicos, como productos de degradación de los aldehídos, mostraron resultados opuestos. En contraste, los compuestos fenólicos no volátiles revelaron un aumento continuo a la intensidad UV-B.

Baja dosis de UV-B ecológicamente relevante (0,3-1 kJ m² d⁻¹) se aplicaron a los brotes de *Brassica oleracea* var. italica (brócoli), y se determinaron las respuestas eco-fisiológicas, tales como la acumulación de los metabolitos secundarios volátiles. Efectos de la radiación UV-B por lo general se han relacionado con los aumentos en compuestos fenólicos. Como era de esperar, los flavonoides, kaempferol y quercetina se acumularon en los brotes de brócoli (la parte aérea de las plantas de semillero) 24 h después del tratamiento UV-B. Un nuevo hallazgo es la inducción de glucosinatos (GS) especialmente de 4-methylsulfinylbutyl GS y GS 4-metoxi-indol-3-ilmetilo, mientras que los carotenoides y los niveles de clorofila no se vieron afectados. La acumulación de metabolitos defensivos como GS estuvo acompañado por el aumento de la expresión de genes asociados con salicilato y señalización de las vías de defensa de ácido jasmónico y con la regulación de genes de respuesta

a los patógenos fúngicos y bacterianos. Al mismo tiempo, la pre-exposición de la planta a dosis moderadas de UV-B tiene efectos negativos sobre el rendimiento de la oruga *Pieris brassicae* (L.) y en el crecimiento de la población del áfido *Myzus persicae* (Sulzer) (Mewis *et al.*, 2012).

Demkura *et al.*, (2010), explican que una fracción muy pequeña del espectro de la radiación ultravioleta B, provoca cambios en el metabolismo secundario vegetal que tienen grandes efectos sobre las interacciones planta-insecto. Las vías de transducción de señales que median estos efectos específicos de la energía solar UV-B no se conocen.

4.- Transducción de Señales en Respuesta a UV-B

La radiación UV-B no es simplemente un agente del daño, pero si una señal ambiental clave que regula diversos procesos en una gama de organismos (Ulm y Nagy, 2005; Jenkins y Brown, 2007). En las plantas, UV-B estimula la expresión de genes implicados en la protección de los rayos UV y la reparación de daños y por lo tanto promueve activamente supervivencia en la luz del sol. Además, las respuestas a UV-B modificar la composición bioquímica de la planta, puede influir en la morfología de la planta, y ayudar a disuadir plagas y agentes patógenos (Frohnmeier y Staiger, 2003; Stratmann, 2003). Dada la gran importancia de la regulación de respuestas a UV-B, es importante entender los mecanismos subyacentes a la exposición a la radiación UV-B: percepción y transducción de señales (Figura 1).

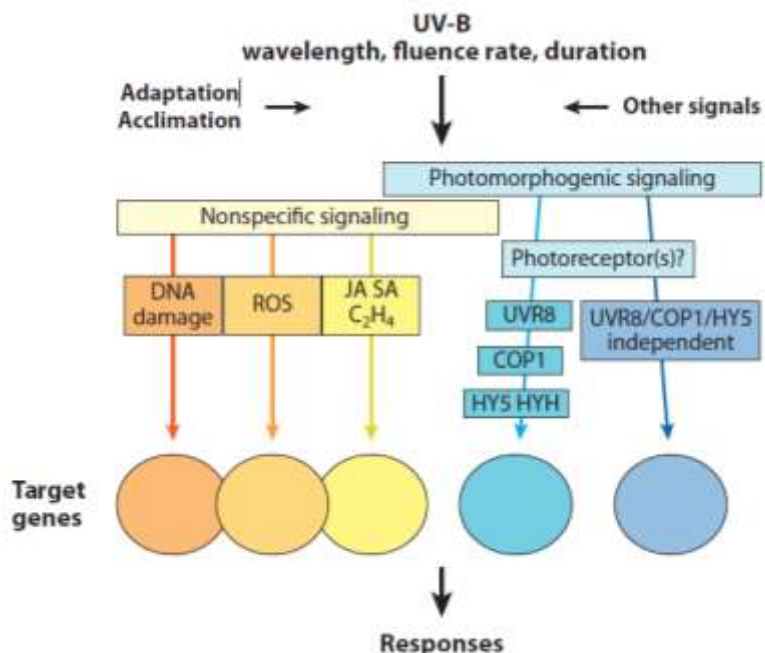


Figura 1. Vías de transducción de señales de UV-B.

UV-B estimula distintas e inespecíficas vías de transducción de señales, dependiendo de la longitud de onda, tasa de fluencia, y la duración de la exposición, lo que lleva a la inducción de conjuntos específicos de genes blanco y las respuestas posteriores. El grado de señalización y respuesta se verá influida por el grado de adaptación de las plantas y la aclimatación a los rayos UV-B y las interacciones con otros estímulos: ROS, ácido jasmónico, ácido salicílico, UVR8, COP1, HY5, HYH.

Las plantas muestran diversas respuestas a los rayos UV-B, que van desde el estrés agudo a las respuestas fotomorfológicas reguladoras. Para comprender plenamente los efectos de la UV-B en las plantas es necesario diseccionar los mecanismos celulares y moleculares que subyacen las diferentes respuestas. Sin embargo, este es una tarea compleja porque, en

primer lugar, diferentes tipos de respuestas a UV-B implican diferentes mecanismos de la percepción y transducción de señales. Por lo tanto es necesario clasificar las diferentes tipos de respuestas y definir los procesos de señalización implicados en cada uno de ellos. En general, las respuestas de estrés a UV-B están mediadas por las vías de señalización no específicas a los rayos UV-B, y muchos de los genes inducidos pueden ser activados por otros factores de estrés (Kilian *et al.*, 2007). Por el contrario, los rayos UV-B son de gran importancia para la señalización (Figura 2) en la mediación a las respuestas fotomorfogénicas de aclimatación (Brown *et al.*, 2005). Por ejemplo, la activación de vías de señalización de defensa por UV-B podría influir en la morfogénesis a través de efectos sobre la producción de etileno (Blum *et al.*, 2004). Por otra parte, la producción de ROS puede afectar la morfología (Gerhardt *et al.*, 2005). Las plantas que crecen en el ambientes de radiación UV-B, es probable que utilicen una combinación de vías inespecíficas y específicas para optimizar sus respuestas al nivel de frecuencia variable de la radiación UV-B. Evidentemente, es importante para determinar el número de diferentes vías de señalización UV-B y definir sus funciones y relaciones funcionales en las plantas que crecen en condiciones naturales condiciones (Jenkins, 2009).

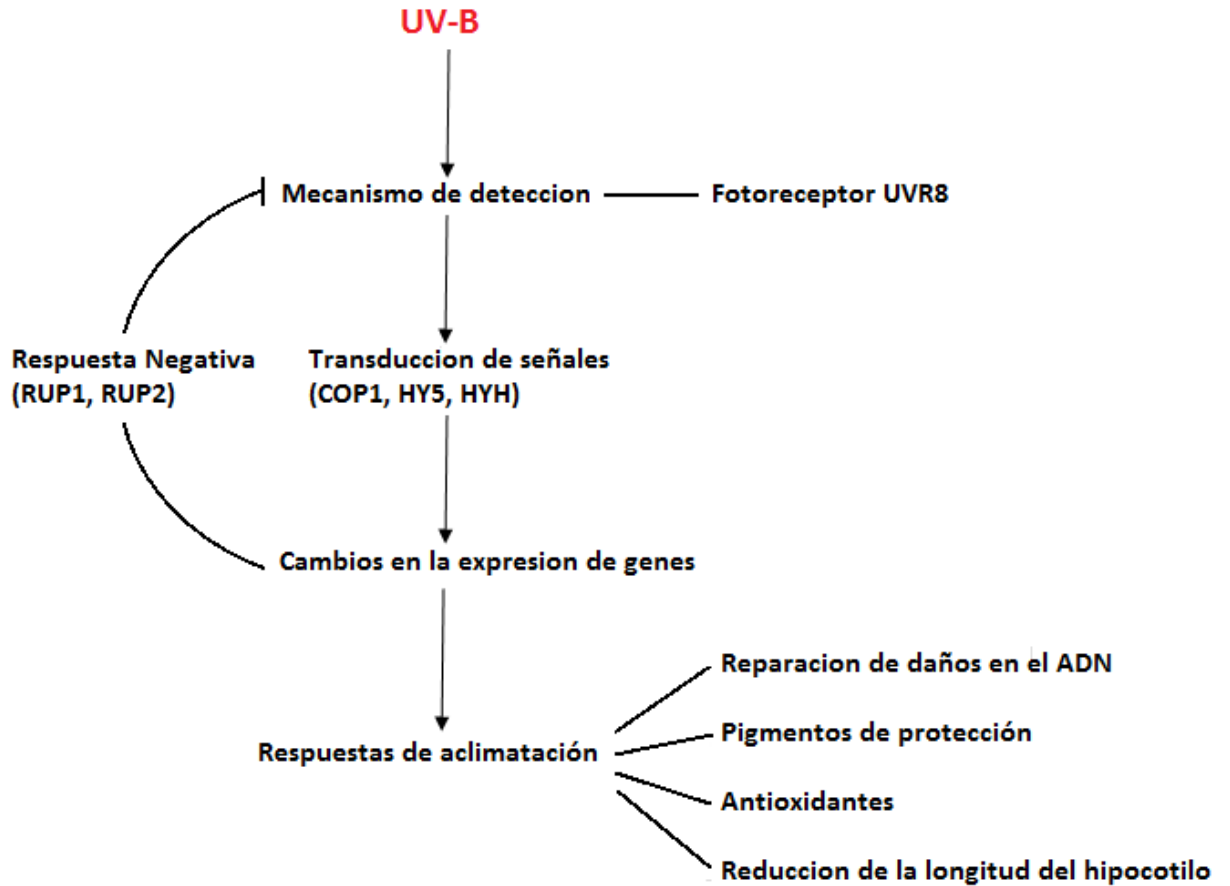


Figura 2. Las plantas detectan UV-B con el fotoreceptor UVR8.

La activación de UVR8 conduce a la interacción con la ubiquitina ligasa COP1 y la estabilización de las proteínas bZIP factor de transcripción HY5 que transmite la señal de UV-B que resulta en cambios en la expresión génica. Entre el conjunto de genes UV-B que responden son los que codifican proteínas que funcionan en la fotomorfogénesis inducida por UV-B y por lo tanto a la aclimatación. Estos incluyen las proteínas implicadas en la protección UV (por ejemplo ruta de biosíntesis fenilpropanoide produciendo pigmentos absorbentes de UV-B), especies reactivas del oxígeno (antioxidantes), reparación de daños en el ADN (por ejemplo, fotoliasas) y la inhibición del crecimiento del hipocótulo.

Además, las proteínas de repetición WD40-RUP1 y PRI2 están inducidos por la radiación UV-B, que facilitan la regeneración negativa de la vía de señalización de UV-B mediante la inactivación directamente de UVR8 (Tilbrook et al., 2013).

5.-Proteína UVR8, Reguladora de Genes para la Protección a la Radiación UV-B.

La exposición de las plantas a la radiación UV-B (280 a 320 nm) resulta en cambios en la expresión de un gran número de genes. La radiación UV-B o de otras longitudes de onda es percibida por algún tipo de receptor, para luego ser transducida a través de una vía de señalización a las moléculas blanco, ya sea de las proteínas en el citoplasma o material genético en el núcleo, dando lugar a una respuesta celular. La percepción de bajos niveles de radiación UV-B se produce probablemente a través de un fotoreceptor para UV-B seguido por diferentes vías de señalización. Estas vías incluyen segundos mensajeros tales como el calcio, quinasas y la formación catalítica de especies reactivas del oxígeno. Altos niveles de radiación UV-B, probablemente causan daño celular y estrés oxidativo, activando de este modo una vía de transducción de señal de estrés general que conduce a una respuesta similar a la que se produce después de ataque de patógenos y otros tipos de estrés. Algunos de los genes identificados que regulan la radiación UV-B, codifican proteínas implicadas en la biosíntesis de pigmentos de protección, la reparación del ADN y las enzimas antioxidantes, genes asociados a la fotosíntesis, los genes del ciclo celular, y

los genes de estrés inducidos por otros tipos de estímulos (Brosché y Strid, 2003).

La proteína UVR8 es una señal específica y un componente de transducción que juega un papel fundamental en la mediación de las respuestas de la planta a la radiación UV-B. En particular, la protección UVR8 regula respuestas de la expresión de genes que permiten a las plantas sobrevivir a la luz del sol. Por lo tanto, UVR8 define una vía de señalización clave en las plantas. Se requiere investigación para identificar otros componentes de la vía UVR8 pero se ha encontrado que el factor de transcripción es un gen, HY5, relacionado con protección UV. La sensibilidad UV del mutante *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotipo Landsberg proporciona directa evidencia de que se requiere el gen HY5 para la supervivencia a la radiación UV-B. Por tanto, la investigación demuestra que HY5 juega un doble papel en la fotomorfogénesis y protección a UV (Wargent *et al.*, 2009).

Las plantas han desarrollado un sistema específico para la percepción a la radiación UV- B. En la respuesta a la radiación UV-B los principales reguladores que intervienen son el LOCUS 8 (UVR8) y ubiquitina ligasa, represor fotomorfogénico (COP1). A nivel molecular se ha demostrado que las proteínas UVR8 y COP1 interactúan directamente y de manera rápida en la planta. Estos datos colectivamente sugieren que la interacción específica de la COP1 y UVR8 en el núcleo es un paso muy temprano en la señalización y son

responsables de la respuesta coordinada de la planta a los rayos UV-B asegurando aclimatación y protección en el entorno natural.

UVR8 actúa exclusivamente en la señalización de UV-B, por lo tanto muestra alta especificidad funcional (Brown *et al.*, 2005). En la planta, la radiación UV-B estimula la rápida acumulación nuclear de la proteína UVR8, que parece ser necesaria, pero no es suficiente para responder a los cambios de expresión génica (Kaiserli y Jenkins, 2007). UVR8 está asociada constitutivamente con las regiones de la cromatina de varios genes UV-B activados, incluyendo el locus genómico HY5 (Brown *et al.*, 2005; Cloix y Jenkins, 2008). Recientemente, se sugirió que HY5 y su homólogo HYH son efectores clave de la vía UVR8 y actúan de forma redundante para controlar la expresión de la mayoría, si no es que de todos, los genes UVR8 blanco (Brown y Jenkins, 2008).

Para apoyar aún más esta noción y proporcionar una manifestación fisiológica de la aclimatación a UV-B, se combinó la exposición débil a banda estrecha de UV-B con la posterior exposición a banda ancha de UV-B. La exposición de las plántulas de tipo silvestre durante 7 días en banda estrecha de UV-B, que activa las respuestas fotomorfogénicas, dieron como resultado la tolerancia a un posterior tratamiento de estrés de UV-B de banda ancha. Este efecto de aclimatación estaba ausente en mutantes UVR8 y líneas mejoradas sin expresión de UVR8. Del mismo modo, los mutantes COP1 se ven afectados en su respuesta de aclimatación, mientras que la presencia de COP1

mostró mayor tolerancia al estrés UV-B después de la aclimatación. Bajos niveles de UV-B estimulan la transcripción de genes, muchos están involucrados en la protección UV-B.

5.1.-COP1: Regulador de las Respuestas a UV-B

Investigaciones recientes han revelado una nueva función para la proteína de *Arabidopsis* COP1 en las respuestas a UV-B. En marcado contraste con su función como un regulador negativo de fotomorfogénesis, COP1 es un regulador positivo de las respuestas de UV-B. La acumulación de flavonoides (Oravec *et al.*, 2006) y la supresión de la elongación del hipocótilo en respuesta a UV-B altera a COP1 en plantas mutantes. Entre los genes regulados positivamente por COP1 es HY5. De hecho, casi la mitad de los genes regulados por la COP1 se controlan también por HY5, lo que indica que HY5 es un efector clave de la vía COP1. Por lo tanto, COP1 y HY5 actúan juntos en el núcleo como una de las respuestas a UV-B, mientras que COP1 degrada HY5 en el núcleo en la oscuridad.

UVR8 y COP1 regulan muchos de los mismos genes y ambos son necesarios para la inducción de HY5. Por lo tanto, UVR8 y COP1 parecen funcionar en la misma vía, aunque hay poca información disponible para explicar su relación funcional. Una posibilidad es que UVR8 regula la acumulación nuclear de la COP1 o viceversa, pero no hay información disponible sobre este punto. Otra posibilidad es que UVR8 acumula COP1 en

un complejo implicado en la regulación de la transcripción de UV-B. Esta posibilidad está apoyada en un reciente informe donde explican que UVR8 interactúa directamente con COP1 de manera dependiente de UV-B (Favory *et al.*, 2009).

5.2.- HY5

Es un factor de transcripción bZIP estudiado ampliamente, juega un papel clave en la promoción de fotomorfogénesis bajo la luz de diversas condiciones (Ulm *et al.*, 2004), también interviene en la respuesta entre la luz y la señalización de hormonas, tal como ácido abscísico, giberelinas , y auxinas (Lau y Deng, 2010), y se integra luz a respuestas de estrés , tales como temperatura baja (Catalá *et al.*, 2011). En la vía de señalización de UV -B, HY5 sirve como un centro que se requiere para la acumulación de transcripciones de un subconjunto de genes que responden a UV-B, la expresión de HY5 inducida por UV-B depende en gran medida de UVR8 y COP1 (Favory *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2012).

5.3.-HYH

Proteína estrechamente relacionada a su homólogo HY5, actúa de forma redundante con HY5 en la regulación de un número de genes de UV-B, pero HYH es menos sensible a los rayos UV-B que HY5, lo que indica que HYH es de importancia secundaria (Brown y Jenkins, 2008). Dado el papel central de HY5, es fundamental para entender cómo la radiación UV-B regula la transcripción de HY5.

ARTÍCULO

Study of morphological and histological changes in melon plants grown from seeds irradiated with UV-B

V. P. Sosa-Flores¹, F. Ramírez-Godina², A. Benavides-Mendoza^{1*}, H. Ramírez¹

¹Departamento de Horticultura, ²Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

*Email: abenmen@gmail.com

Abstract

Is well known that exposure of plant seedlings or plants to UV-B radiation induces changes in gene expression resulting in biochemical and morphological modifications. However, there is little information on the effects and potential utility of irradiation of seeds with UV-B. The aim of this study was to apply UV-B radiation in melon seeds using various irradiation times and then assess the effect on growth and morphology of the plant. Seeds of cultivar 'Topmark' were exposed to UV irradiation with wavelength centered at 302 nm, for periods of 0, 15, 30 and 45 minutes (UV dosages of 0, 99, 198 and 297 mJ cm⁻², respectively). The irradiated seeds were seeded in a mixture of peat moss and perlite for greenhouse germination. Morphological parameters such as plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, fresh and dry weights were evaluated. Stomatal frequency, stomatal index, and length and width of stomata were studied. Histological analyses were conducted to determine the areas of the stem vascular bundle and xylem vessels, width and length of vascular bundles, and the area of the lumen of xylem vessels. The analysis of variance indicated significant differences between

treatments, with the treatment of 15 minutes (99 mJ cm^{-2}) of seed exposure to UV-B radiation generating 24.87 and 32.42 % more fresh and dry weight of the plants, respectively. Stomatal index was augmented on the adaxial surface by 52.26, 7.14 and 13.55 %, in the treatments of 99, 198 and 297 mJ cm^{-2} , respectively, in contrast with the control treatment, while the length of stomata was increased by 6.99% in the treatment with 30 minutes exposure time (198 mJ cm^{-2}). Stomatal frequency was unchanged by exposure to radiation. The irradiation of the seeds caused decrease in P, Ca and Na in the leaves of plants.

Keywords: Irradiance, photoreceptors, signaling, seed irradiation, seed priming, *Cucumis melo*.

Introduction

Ultraviolet-B (UVB: 280–320 nm) radiation is a relatively minor component of sunlight, but it can induce physiological processes related to stress or photomorphogenic responses in plants (Li *et al.*, 2013). The type of responses that are induced by UV-B radiation are mainly determined by the exposure dose and also depend on whether the plants are acclimatized by previous exposure to UV-B radiation (Heijde and Ulm, 2012). Non-harmful levels of UV-B radiation can induce transcriptional changes that result in the alteration of expression of genes encoding enzymes, membrane proteins, transcription factors, signaling components and several proteins involved in different cellular processes, including photosynthesis, primary metabolism and secondary cell wall biosynthesis, protection from stress, DNA release processes, processing of ribonucleic acid (RNA), and translation and proteolysis (Berli, 2011).

A moderate exposure to UV-B radiation can induce active acclimation responses, while more severe conditions can cause metabolic disorders. The response of a plant acclimated to a variety of environmental stresses is the accumulation of secondary metabolites and antioxidants (Carrasco, 2009). Similarly, the UV-B modifies the levels of a wide range of metabolites, including phenolic compounds, terpenoids, alkaloids and flavonoids (Eichholz *et al.*, 2012). It has been found that the concentrations of some of these metabolites augment after exposure to UV-B, while others suffers attenuation or transient change. In the last case the direction of the changes is dependent on whether the dose of radiation is high or low (Jansen *et al.*, 2008). Exposure to UV-B promotes various changes in morphology and growth of plants, including inhibition of the extension of the stem and reduced internode elongation, reduction in leaf area, increases in the thickness of the leaf lamina and in the number of epidermal cell layers, epicuticular waxes and pubescence (Jansen *et al.*, 1998. Pinto *et al.*, 2000; Frohnmeyer and Staiger, 2003). Studies of leaf growth in *Arabidopsis thaliana* indicate that the epidermal cells and stomatal density were higher in plants treated with UV-B (Wargent *et al.*, 2009). Most of the aforementioned morphological changes were observed following exposure of seedlings of different species to UV-B radiation (Singh *et al.*, 2011; Zuk-Golaszewska *et al.*, 2003). Sugimoto (2013) noted that the information about the reaction of plants whose seeds were exposed to UV-B might offer a solution on how to deal with the recent poor climate conditions hampering crop production. However, there are few reports on the effects of UV-B radiation on seeds and their subsequent impact on the behavior of plants. Therefore, the aim of this study was to determine the effects of the UV-B irradiation of seeds on the growth, stomatal morphology, stem anatomy and mineral content of melon plants (*Cucumis melo* L.). The hypothesis was

that the active UV-B receptors in the seed cells can induce changes in the program of development of the plant embryos, such that a series of morphological and biochemical differences manifest in a trans-developmental manner (Magliano and Casal, 2004) in later stages of plant growth.

Materials and methods

The experiment was conducted at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, located in Saltillo, Coahuila, Mexico, at latitude 25°23'N and longitude 101°02'W, with an altitude of 1,743 meters.

Cantaloupe type melon seeds of cultivar 'Topmark' were used. Four different exposure times: 0, 15, 30 and 45 minutes were applied to the seed, corresponding to UV dosages of 0, 99, 198 and 297 mJ/cm⁻², respectively, with irradiation intensity of 1.1 J m⁻² s⁻¹ using a UV-B radiation lamp (Lamp 3UV, model 3UV-36) with wavelength centered at 302 nm. The irradiance was kept constant at 1.1 W m⁻² and the applied doses were obtained by varying the exposure time at a fixed distance using the expression:

$$D = \frac{I * t}{1000}$$

where: D = applied radiation dose (kJ m⁻²), I = Irradiance (W m⁻²) and t = exposure time (in seconds).

Planting was conducted in a greenhouse 24 hours after irradiation of the seed in polyethylene pots of 1 L, using peat moss and perlite in the ratio (70:30 v/V) as substrate for germination. The periods of irradiation of the seeds were the treatments; each treatment had six replicates with 10 seeds per repetition. Steiner nutrient solution

(Steiner, 1961) was used for irrigation of plants every other day with concentration of 30 and 50% according to the plant growth. The first application was made 30 days after planting (DAP) and the last 80 DAP.

Morphological variables: Evaluations were performed at 56, 67 and 81 DAP, determining plant height (PH) from the base of the stem to the stem apex using a tape measure; stem diameter (SD) was obtained with a digital vernier (AutoTec) and was measured in the middle part of the stem; total number of leaves (TNL) of 6 randomly selected plants from each treatment were counted; and leaf area (LA) using a leaf area meter (LI-COR 3100) (Dai *et al.*, 1995). Fresh weight (FW) and dry weight (DW) of the whole plant were determined. The aerial part was cut from the base of the stem, the root thoroughly washed to remove the adhered soil. Samples were taken to the laboratory where they were weighed on a digital balance (Precisa 610C BJ), then placed in paper bags in an drying oven (Riosa H - 48) at 65 °C for 72 h until constant weight was achieved and then weighed on a digital scale (Accurate BJ 610C) with 0.01 g precision.

Stomatal study: The stomata study was conducted on a sample obtained 71 DAP. Three plants of each treatment were randomly selected and a leaf lamina having physiological maturity and an east-facing orientation was taken from each plant, two foliar impressions were taken from both adaxial and abaxial surfaces. A coating of transparent varnish was used on the samples, whereby a thin layer over the epidermal surface of the adaxial and abaxial leaf surfaces was placed over an area of about 3 cm² in the middle of the leaf blade, allowed to dry and then the film was carefully removed with the aid of

transparent adhesive tape placed over the layer of varnish. The ribbon with the leaf print was placed on a clean microscope slide, previously labeled.

For each print two random fields were observed under a microscope at 40X magnification in order to analyze the adaxial and abaxial surfaces. A photomicrograph of each field was taken, in which the number of stomata and epidermal cells were counted, stomatal width (SW) and length (SL) were measured for five stomatal guard cells in each of the fields of the microscope so that 30 adaxial surfaces and 30 stomata abaxial surfaces of each treatment were measured. The stomatal density (SD) was obtained as follows:

$$SD = \frac{\text{Number of stomata}}{0.02479 \text{ mm}^2}$$

where SD = number of stomata mm^{-2} , 0.02479 mm^2 = area of the photographed image.

To determine the stomatal index (SI) the following formula (Wilkinson, 1979) was used:

$$SI = \frac{\text{Number of stomata}}{\text{Number of epidermal cells}} \times 100$$

The abaxial SI could not be determined, because the impression did not permit a clear determination of the number of epidermal cells. A compound microscope (Carl Zeiss) with digital camera (Pixera Winder Pro) and measurement software (AxionVision Rel. 4.8) were used.

Analysis of the histological structure of vascular bundles: In order to study the vascular bundles of the stem four plants of each treatment were collected at 44 DAS, from which stem samples of the first and fourth internodes were obtained. They were cut

with a razor and 2 pieces of approximately 2.5 cm in length of each plant were obtained, thus having a total of 8 samples per treatment. The stems were fixed with formalin-acetic-alcohol (FAA) mixture (40% formaldehyde 5 mL, glacial acetic acid 5 mL, 70% alcohol 90 mL,) and were subsequently embedded in histological paraffin sections, made on a microtome (American Optical 820) for sectioning these blocks with a thickness of 18 μ . The sections were stained with safranin 1% and Fast Green 0.05% (Cañizares *et al.*, 2005; Hernández, 1990).

From each plant, cuts from the first and fourth internodes were photographed using a compound microscope (Carl Zeiss) with digital camera (Pixera Winder Pro). Area measurements were taken of the vascular bundle (AVB), and xylem vessels (AXV). Also were checked the widths (WVB) and lengths (LVB) of the middle part of 4 vascular bundles taken randomly. It was considered the margin of the vascular bundle the boundary between the parenchyma and phloem cells of the vascular bundle viewed at magnification 5X. In addition, the average lumen area of the xylem vessels (LAX) was measured in five small-sized, five medium-sized and five large-sized xylem vessels of four vascular bundles in each plant. The number of xylem vessels (NXV) in four vascular bundles in four different plants per treatment was counted. The measurements were carried out using the software AxionVision Rel. 4.8.

Analysis of mineral content: The mineral content was determined from samples collected 81 DAS in four plants from each treatment. The leaves were placed in a paper bag and dried in a drying oven (Riosa H-48) at 65 °C for 72 hr, and then ground in a mortar. This material was digested using a solution of perchloric acid and nitric acid in a 1:3 ratio. The contents of K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu, and Z were determined by an

atomic absorption spectrophotometer (Varian AA-1275) (Fick *et al.*, 1976). For the determination of total N the micro Kjeldhal method (AOAC, 1990) was used whereas for P the colorimetric method (AOAC, 1980) was used.

Statistical analysis: The experimental design used for the morphological analysis was a randomized block. Analysis of variance (ANOVA) and least significant difference (LSD) tests ($\alpha = 0.05$) were performed. For the variables related to stomatal characters, anatomy of the vascular bundles of the stem, and mineral content, a completely randomized layout was employed, with analysis of variance (ANOVA) and LSD tests ($\alpha = 0.05$).

Results and discussion

Morphological analysis of seedlings: The morphological parameters evaluated showed statistical differences following exposure of seed to UV-B. Fresh weight in control plants was less than those of irradiated plants, the latter showing a greater height and larger leaflets, as is clear from the fact that the control had a higher number of leaves, but lower leaf area (Table 1). Similarly, treatment with doses of 99 and 297 mJ cm⁻² exceeded the control in dry weight, leaf area, and stem diameter. These results differ from those reported by Zuk *et al.* (2003), who indicated a negative impact of irradiation with UV-B on the fresh weight and height of seedlings of *Avena fatua*. The difference may be explained by the fact that the aforementioned researchers irradiated the seedlings while in the present study the seeds were irradiated.

Tabla 1. Effect of irradiation of melon seeds with UV-B on plant morphological variables.

Treatment	FW	DW	LA	TNL	PH	ADS
mJ/cm ⁻²	(g)	(g)	(cm ⁻²)			(mm)
0	27.50 b	3.27 b	400.88 b	12.28 a	37.88 c	3.88 b
99	34.34 a	4.33 a	469.17 a	12.22 a	42.18 bc	4.22 a
198	30.82 ab	3.75 b	440.59 ab	10.78 b	45.44 ab	4.07 ab
297	30.77 ab	3.72 b	458.88 a	11.83 ab	48.46 a	4.11 ab
\bar{X}	30.86	3.77	442.38	11.78	43.49	4.07
LSD	3.72	0.50	46.40	1.31	5.36	0.33

Means with the same label in each column are equal according to the LSD test ($P \leq 0.05$). FW = Fresh weight; DW = dry weight; LA = Leaf area; TNL = total number of leaves; PH = Plant height; ADS = average diameter of the stem.

Figure 1 shows the increase in fresh weight by considering the different samples. The positive results of the irradiation of seed weight on seedling in the first sampling, and no differences in subsequent samplings, are in contrast to those reported by Shaukat *et al.* (2013), when they irradiated hydrated seeds of *Vigna mungo* (L.) Hepper with UV-B (centered on 280-312 nm) for 10, 20, 30 and 40 minutes, achieving reduction in fresh weight of radicle and shoot of seedlings. We assume that the hydration of the seeds changes their response to the irradiation, being similar to the negative response described by Zuk *et al.* (2003) when irradiating seedlings.

With respect to leaf area no differences among treatments was detected (Table 1). Dai *et al.* (1995) reported no changes in leaf area when seedlings of *Oryza sativa* L. were

irradiated for four weeks with 1.94 W m^{-2} of UV-B. The authors noted that it was possible that the irradiance used was not sufficient to induce an alteration in leaf area.

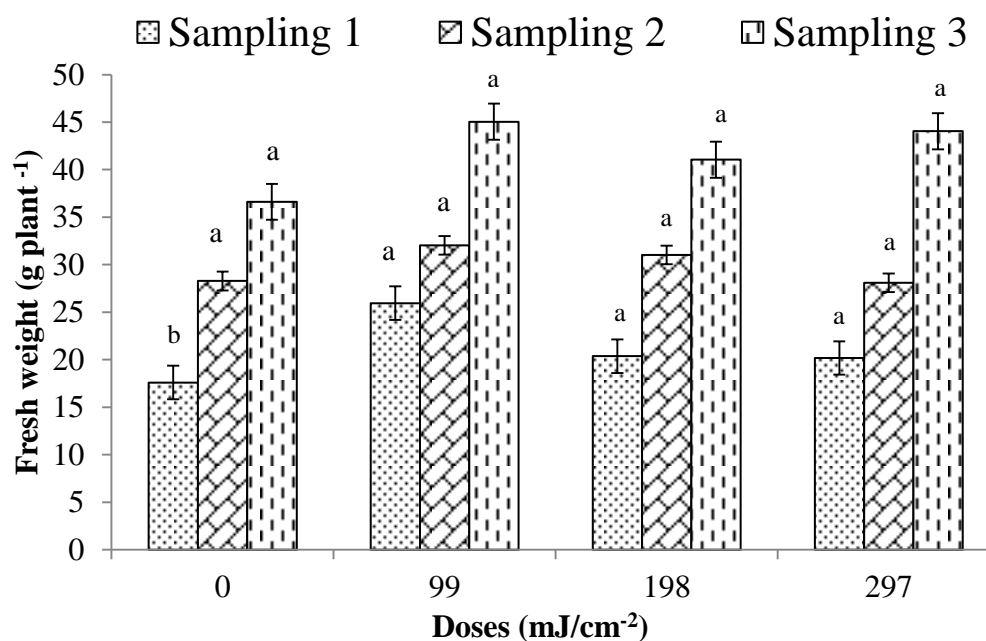


Figura 3. Fresh biomass of melon plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B; results from three samples. Bars indicate standard error range.

Stomatal study: Analysis of variance showed no differences in any of the evaluated variables in abaxial leaf surface. However, significant differences ($P \leq 0.005$) for stomatal index variables and length of stomata on the adaxial surface were detected (Table 2). The adaxial stomatal index was greater with 99 mJ cm^{-2} (Figure 2), with no difference effects for all other variables. Similar results were reported by Dai *et al.* (1995) with rice seedlings. These authors explain that the effect of only modifications in the adaxial side may be because this area of the plant epidermis is more susceptible to the effects of UV-B irradiation.

Tabla 2. Mean values of variables of foliar epidermal morphology of plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B.

Treatment	Abaxial [§]			Adaxial			
	SD	SL	SW	SD	SI	SL	SW
		(μm)	(μm)			(μm)	(μm)
0	500.00 a	19.99 a	13.57 a	256.9 a	25.83 b	21.86 b	14.63 a
99	541.67 a	21.97 a	14.62 a	312.50 a	39.33 a	20.38 c	13.77 a
198	416.67 a	21.10 a	14.09 a	256.94 a	27.83 b	23.39 a	17.90 a
297	486.11 a	20.74 a	14.53 a	229.17 a	29.33 b	21.56 bc	12.91 a
\bar{X}	486.11	20.95	14.21	263.89	30.58	21.78	14.80
LSD	127.61	2.03	1.24	87.40	8.32	1.41	5.26

[§]The abaxial SI could not be determined, because the impression did not permit a clear determination of the number of epidermal cells. Means with the same label in each column are equal according to the LSD test ($P \leq 0.05$). SD = stomatal density; SL = stomatal length; SW = stomatal width; SI = stomatal index.

Wargent *et al.* (2009) assessed some aspects of cell development in leaves of *Arabidopsis thaliana* irradiated with UV-B at doses in the range 0 and 25 $\text{kJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$. They observed that upon irradiation of plants the number of epidermal cells decreased, increasing the area of the external surface of the cells. It is possible that this reaction appears in our results on exposing the seed to a dose of 198 mJ/cm^{-2} where SI is less, but greater SL and SW were observed. This effect may be the phenotypic expression of the receptors of the seed and the issuing a signaling response subsequent to the irradiation with UV-B.

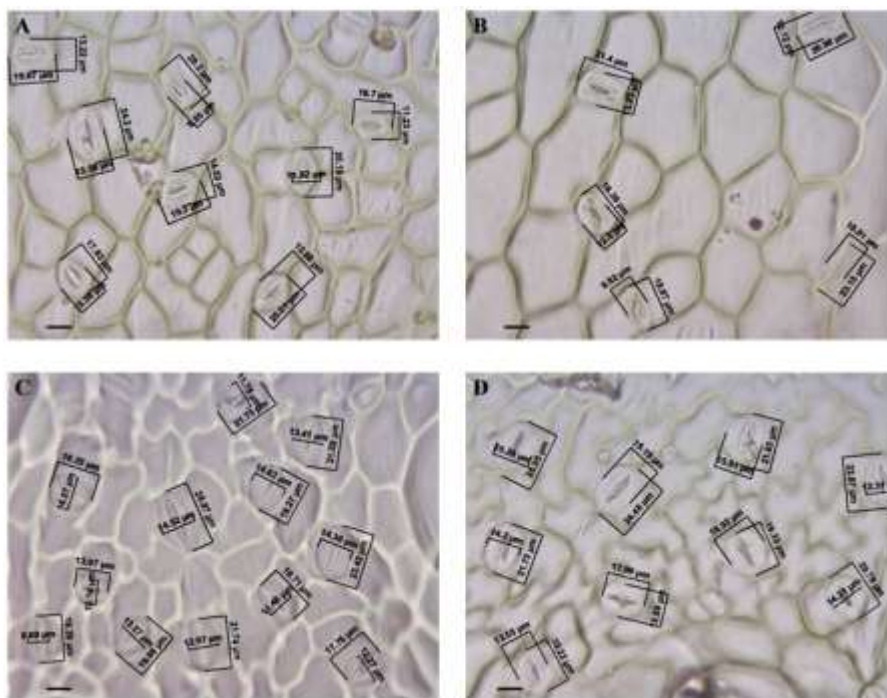


Figure 4. Adaxial epidermal impressions of plants grown from seeds irradiated with UV-B dose of 99 mJ cm^{-2} (A) and 297 mJ cm^{-2} (B). Epidermal abaxial leaf imprints from plants grown from seed exposed to UV-B dose of 99 mJ cm^{-2} (C) and 297 mJ cm^{-2} (D). 40X objective.

Histological analysis of the vascular bundles of the stem: There were significant effects in samples obtained from the first internode (Table 3) with respect to variables of AXV, LHV, and NXV. The increase in the number of xylem vessels was associated with environmental stress (Schmitz *et al.*, 2006). However in our results a direct relationship between dose and number of vessels was not observed, rather it was observed the maximum response in the intermediate dose and the response decreases in the high dose in both internodes.

The data obtained from the first internode of the plant, showed that treatment with 99 and 198 mJ/cm^{-2} produced an increase in the area of xylem besides showing greater vascular bundle width (transverse length) (Table 3 and Figure 3). Treatment with 297 mJ

cm⁻² resulted in lower values of xylem area, length and width of vascular bundle, and fewer xylem vessels. The last response is similar to that reported by Ramos *et al.* (2004) who found that high concentrations of NaCl (18 mS/cm) in *Pappophorum philippianum* plants induced a diminished diameter of xylem vessels in the root. This may represent a strategy for dealing with stress, possibly to reduce the possibility of embolism in the xylem under conditions of water deficit caused by high salinity or high irradiance.

The analysis of variance of the measurements made in the fourth internode samples indicated that there were highly significant differences for variables of xylem area, vascular bundle width and changes in the area of the lumen xylem vessels, plus significant differences in the number of xylem vessels.

Tabla 3. Characteristics of the histological structure of the vascular bundles of the stem of plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B. Samples were obtained from the first and fourth internodes.

First internode						
Treatment	AVB	AXV	LAX	LHV	WVB	NXV
mJ/cm ⁻²	(μm ²)	(μm ²)	(μm ²)	(μm)	(μm)	
0	774,030.00 a	148,700.00 ab	2,167 a	1,069.59 ab	485.63 ab	74.00 ab
99	456,313.00 a	161,493.00 a	2,326 a	1,140.09 a	478.31 ab	73.06 bc
198	550,966.00 a	178,458.00 a	2,277 a	1,125.35 a	524.03 a	85.50 a
297	426,468.00 a	114,841.00 b	6,785 a	964.54 b	428.99 b	62.00 c
\bar{X}	551,944.20	150,873.40	3,388.58	1,074.89	479.24	73.64
LSD	451,400	35,265	6,528	133.93	75.61	11.655

Fourth internode						
0	226,605.00 b	55,558.00 b	927.75 b	737.79 a	276.45 b	29.625 ab
99	285,462.00 a	83,426.00 a	1,226.75 a	788.10 a	341.90 a	37.750 a
198	261,188.00 ab	60,314.00 b	1,266.09 a	786.26 a	330.59 a	30.313 ab
297	258,873.00 ab	51,168.00 b	1,208.92 a	726.91 a	312.60 ab	25.563 b
\bar{X}	258,032.20	62,616.33	1,157.38	759.77	315.38	30.81
LSD	49,501.00	15,606.00	147.51	96.512	38.023	8.677

Means with the same letter within each column of factors are equal according to the LSD test ($P \leq 0.05$). AVB = area of vascular bundle; AXV = area of xylem vessels; LAX = average lumen area of xylem vessels; LHV = length of the vascular bundle; WVB = width of vascular bundle; NXV = number of xylem vessels.

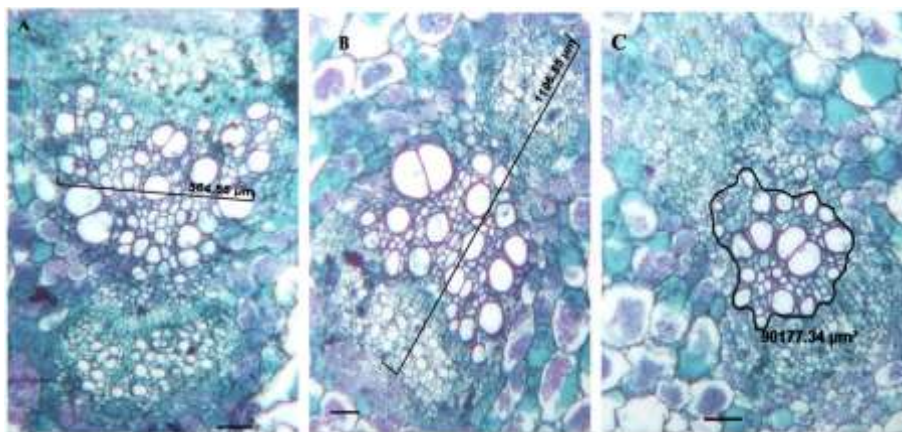


Figura 5. Vascular bundles of the first internode of plants grown from seeds irradiated with UV-B. A) Dose 198 mJ cm⁻². B and C) Dose 297 mJ cm⁻². 10X objective. Bar 100 μm.

In the fourth internode the dose of 99 mJ cm⁻² produced an increase in the AVB, AXV and NXV (Figure 4). These results differ from those presented by Torres-Boeger and Poulson (2006), who found no significant differences in structural vascular bundles of leaves from *Arabidopsis thaliana* (L.) using a dose of 6 kJ m⁻² d⁻¹, which is 6.06 times

the dose of 99 mJ cm^{-2} that we used. In our study, treatment without irradiation resulted in overall lower values for the vascular bundle area, area of the lumen xylem vessels, and vascular bundle width. The fact that the irradiation of the seed causes this adjustment response in the vasculature of both the first and fourth internodes of seedlings may suggest an effect of trans-developmental signalling as described by Magliano and Casal (2004).

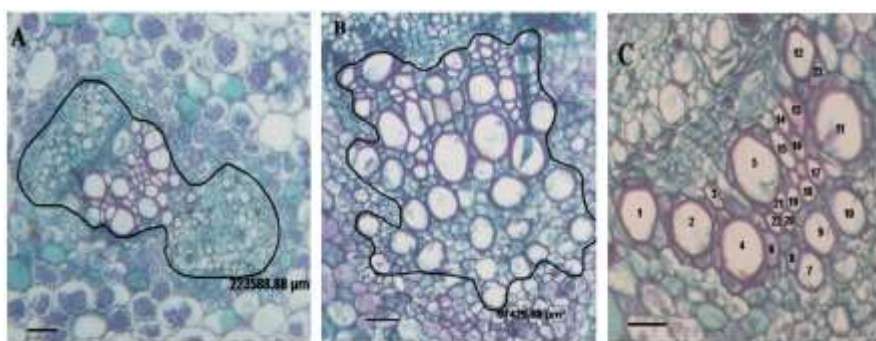


Figura 6. Vascular bundles of the fourth internode of plants obtained from UV-B irradiated seeds A) Dose 0 mJ cm^{-2} . Bar $100 \text{ }\mu\text{m}$, 5X objective. B) Dose 99 mJ cm^{-2} . Bar $50 \text{ }\mu\text{m}$, 10X objective. C) Number of xylem vessels treated with 297 mJ cm^{-2} . Bar $50 \text{ }\mu\text{m}$, 10X objective..

Mineral content: There were significant effects ($P \leq 0.05$) in foliar concentrations of P, Ca and Na (Table 4). However N, K, Mg, Cu, Zn, Fe and Mn contents were not affected by irradiation dose. The differences in mineral concentration were also reported by Yao *et al.* (2013) when irradiating wheat seedlings with doses of $2.54 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ and noting that the contents of N, Fe and Cu in the grain were lower in irradiated plants. Meanwhile, Correia *et al.* (2012) reported that irradiation with UV-B increased the content of Zn and Cu and decreased concentration of Mn in organs of mature corn. Previous reports showed that different plant species respond differently to the UV-B

exposure. In our study seed irradiation also modified the mineral content in the leaves, indicating similarities in responses to irradiation in seeds and seedlings.

Tabla 4. Averaged foliar mineral concentrations in melon plants grown from seeds irradiated with different doses of UV-B.

Treatment mJ/ cm ⁻²	%						mg/kg			
	N	P	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Fe	Mn
0	0.10 a	0.26 a	3.27 a	4.40 a	0.18 a	0.24 a	6.67 a	13.33 a	100.33 a	11.33 a
99	0.11 a	0.22 ab	3.25 a	3.54 b	0.17 a	0.15 b	6.00 a	3.33 a	101.00 a	14.33 a
198	0.10 a	0.21 ab	3.31 a	4.09 ab	0.08 a	0.15 b	5.33 a	9.33 a	101.00 a	13.67 a
297	0.09 a	0.18 b	3.13 a	4.34 a	0.03 a	0.12 b	5.33 a	9.67 a	86.00 a	16.33 a
\bar{X}	0.10	0.22	3.24	4.09	0.12	0.16	5.83	8.92	96.42	13.92
LSD	0.0195	0.0704	0.7721	0.6813	0.1723	0.0873	2.306	12.677	49.437	13.424

Means with the same letter within each column of factors are equal according to the LSD test ($P \leq 0.05$).

Acknowledgement

The author Sosa-Flores thanks CONACYT for financial support.

References

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1980. *Official Methods of Analysis* 13th edition. Association of Official Analytical Chemists. D.C. USA.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis of AOAC.1* 15th edition. Vol. II. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C. USA.

Berli F. 2011. *Respuesta de Vitis vinifera L. cv. 'Malbec' a UV-B y ABA*, 14- 22. Tesis de nivel Doctorado. Universidad Nacional de Cuyo Mendoza. 116pp.

Cañizares, A., M Sanabria and E. Rojas, 2005. Anatomía de la hoja de Lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka). *Revista UDO Agrícola*, 5(1): 68–73.

Carrasco, L., 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *IDESIA*, 27(3): 59-76.

Correia, C.M., J.F. Coutinho, , E.A. Bacelar, , B.M. Gonçalves, , L. Björn, and J.M Pereira, 2012. Ultraviolet-B radiation and nitrogen affect nutrient concentrations and the amount of nutrients acquired by above-ground organs of maize. *The Scientific World Journal*, Volume 2012, Article ID 608954, 11 pages.

Dai, Q., S. Peng, A. Chavez and B. Vergara, 1995. Effects of UVB radiation on stomatal density and opening in rice. *Ann. Bot.*, 76(1): 65-70.

Eichholz, I., S. Rohn, A. Gamm, N. Beesk, W.B. Herppich, L.W. Kroh, C. Ulrich and S. Huyskens-Keil, 2012. UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Food Research International*, 48(1): 196–201.

Fick, K., R.S. Miller, J.D. Funk, L.R. McDowell and R.H. Houser, 1976. *Methods of mineral analysis for plant and animal tissues*. University of Florida Institute of Food and Agriculture. Sciences, Department of Animal Sciences, Gainesville, FL USA.

Frohnmeyer, H. and D. Staiger, 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol.*, 133(4): 1420-1428.

Heijde, M. and R. Ulm, 2012. Reversion of the Arabidopsis UV-B photoreceptor UVR8 to the homodimeric ground state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(3): 1113–1118.

Hernández, S.M. 1990. *Manual de Laboratorio Citología y Citogenética*. Editorial Trillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Jansen, M.A., V. Gaba and B.M. Greenberg, 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.*, 3: 131–135.

Jansen, M.A., K. Hectors, N.O'Brien, Y. Guisez and G. Potters, 2008. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops. *Plant Sci.*, 175: 449-458.

Li, J., Yang L., D. Jin, C. D. Nezames, W. Terzaghi and X.W Deng, 2013. UV-B induced photomorphogenesis in Arabidopsis. *Protein & Cell*, 4(7): 485-492.

Magliano, T.A. and J.J. Casal, 2004. Pre-germination seed-phytochrome signals control stem extension in dark-grown *Arabidopsis* seedlings. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 3(6): 612-616.

Pinto M., C. Lizana, C. Pastenes, A. Riquelme and M. Berti, 2000. Efecto de la radiación ultravioleta B sobre el crecimiento y la fotosíntesis de siete variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Revista Chilena de Historia Natural*, 73: 55-66.

Ramos, J.C., M. Perreta, J.C. Tivano and A.C. Vegetti, 2004. Variaciones anatómicas en la raíz de *Pappophorum philippianum* inducidas por salinidad. *Phyton*, 73(1): 103-109.

Schmitz, N., A. Verheyden, H. Beeckman, J. Gitundu and N. Koedam, 2006. Influence of a salinity gradient on the vessel characters of the mangrove species *Rhizophora mucronata*. *Ann. Bot.*, 98(6): 1321-1330.

Shaukat, S., M. Farooq, M. Siddiqui and S. Zaidi, 2013. Effect of enhanced UV-B radiation on germination, seedling growth and biochemical responses of *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Pak. J. Bot.*, 45(3): 779-785.

Singh, R., S. Singh, R. Tripathi and S.B. Agrawal, 2011. Supplemental UV-B radiation induced changes in growth, pigments and antioxidant pool of bean (*Dolichos lablab*) under field conditions. *J. Environ. Biol.*, 32(2): 139-145.

Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*, 15(2): 134-154.

Sugimoto, K., 2013. Seed germination under UV-B irradiation. *Bull. Minamikyushu Univ.*, 43A: 1-9.

Torres-Boeger, M.R. and M.E. Poulson, 2006. Efeitos da radiação ultravioleta-B sobre a morfologia foliar de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). *Acta Bot. Bras.*, 20(2): 329-338.

Wargent, J.J., V.C. Gegas, G.I. Jenkins, J.H. Doonan and N.D. Paul, 2009. UVR8 in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *New Phytol.*, 183(2): 315-326.

Wilkinson, H.P., 1979. *The plant surface (mainly leaf)*. En: Metcalfe C.R. y Chalk L. Eds. *Anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford.

Yao, X., C. Jianzhou, H. Xueli, L. Binbin, L. Jingmin and Y. Zhaowei, 2013. Effects of selenium on agronomical characters of winter wheat exposed to enhanced ultraviolet-B. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92: 320-326.

Zuk-Golaszewska, K., M.K. Upadhyaya and J. Golaszewski, 2003. The effect of UV-B radiation on plant growth and development. *Plant Soil Environ.*, 49(3): 135-140.

III.- CONCLUSIONES GENERALES

- La exposición de la semilla de melón a irradiación UV-B propició modificaciones morfológicas, estructurales en haces vasculares del tallo, densidad e índice estomático, principalmente en la superficie adaxial, además de observarse modificaciones en la anatomía de estomas y contenido de minerales. En la mayoría de los casos estos cambios se presentaron en las plantas tratadas con las dosis de 99 kJ/cm^{-2} .
- La intensidad y el periodo de exposición aplicados tuvieron fuerte influencia sobre las diferencias encontradas en las variables evaluadas.
- Considerando lo anterior, se acepta la hipótesis planteada en la cual se menciona que los receptores UV-B de la semilla inducen cambios en la expresión génica de las plantas.

IV.- LITERATURA CITADA

Bergo E., Segalla A., Giacometti G.M., Tarantino D., Soave C., Andreucci F., and Barbato R., 2003. Role of visible light in the recovery of photosystem II structure and function from ultraviolet-B stress in higher plants. *J Exp Bot* 54 (388): 1665-1673.

Blum J.E., Casati P., Walbot V. and Stapleton A.E. 2004. Split-plot microarray design allows sensitive detection of expression differences after ultraviolet radiation in the inbred parental lines of a key maize mapping population. *Plant Cell Environ.* 27:1374–1386.

Bornman J.F and Teramura A.H. 1993. Effects of ultraviolet-B radiation on terrestrial plants. In: Young AR, ed. Environmental UV Photobiology. Plenum Press, New York. 427–471.

Brosché M., and Strid A. 2003. Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants. *Physiol Plant* 117: 1–10.

Brown B.A., Cloix C., Jiang, G.H., Kaiserli E., Herzyk P., Kliebenstein D.J. and Jenkins G.I. 2005. A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 18225–18230.

Brown B.A. and Jenkins G.I. 2008. UV-B signaling pathways with different fluence-rate response profiles are distinguished in mature *Arabidopsis* leaf tissue by requirement for UVR8, HY5, and HYH. *Plant Physiol* 146: 576–588.

Caldwell M.M., Ballaré C.L., Bornman J.F., Flint S.D., Bjorn L.O., Teramura A.H., Kulandaivelu G. and Tevini M. 2003 *Photochem. Photobiol. Sci.* 2:29–38.

Carrasco R.L. 2009. Efecto de la Radiación Ultravioleta-B en Plantas. *IDESIA* 27(3):59-5796.

Catalá R., Medina J., and Salinas, J. 2011. Integration of low temperature and light signaling during cold acclimation response in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 16475–16480.

Cloix C. and Jenkins G.I. 2008 Interaction of the *Arabidopsis* UV-B-specific signaling component UVR8 with chromatin. *Mol Plant* 1: 118–128.

Delibaltova V. and Ivanova R. 2006. Impact of the pre-sowing irradiation of seeds by helium-neon laser on the dynamics of development of some cotton varieties. *Journal of Environmental Protection Ecology* 7(4): 909-917.

Demkura P., Abdala G., Baldwin I. and Ballare C. 2010. Jasmonate-Dependent and -Independent Pathways Mediate Specific Effects of Solar

Ultraviolet B Radiation on Leaf Phenolics and Antiherbivore Defense. 152: 1084–1095.

Demkura P. and Ballaré C. 2012. UVR8 media la UV-B respuestas de defensa inducidas en *Arabidopsis* contra *Botrytis cinérea*. 5(3): 642-652.

Eichholz I., Rohn S., Gamm A., Beesk N., Werner B., Lothar W., Kroh, Ch. and Huyskens S. 2012. UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Food Research International* 48(1): 196-201

Favory J.J., Stec A., Gruber H., Rizzini L., Oravec A., Funk M., Albert A., Cloix C., Jenkins G.I., Oakeley E.J., Seidlitz H.K., Nagy F. and Ulm R. 2009 . Interaction of COP1 and UVR8 regulates UV-B-induced photomorphogenesis and stress acclimation in *Arabidopsis*. *EMBO J* 28: 591–601.

Frohnmeier H. and Staiger D. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol* 133: 1420–1428.

Gerhardt KE., Wilson M.I. and Greenberg B.M. 2005. Ultraviolet wavelength dependence of photomorphological and photosynthetic responses in *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Photochem. Photobiol.* 81:1061–1068.

Heijde M., and Ulm R. 2012. UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. *Trends Plant Sci* 17: 230–237

Jansen M.A.K. and Bornman J.F. 2012. UV-B radiation: from generic stressor to specific regulator. *Physiologia Plantarum* 145: 501–504.

Jenkins G. 2009. Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60:407–431.

Janukashvili N., Kacharava N., Badridze G., and Chanishvili S.H. 2001. Ultraviolet Radiation Influence on the Content of Antioxidants in leaves of Two Forms of Castorbean. *Bulleten of Georgian Academy of Sciences.*163(2):307-310.

Kacharava N., Chanishvili Sh., Badridze G., Chkhubianishvili E. and 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):137-145.

Kilian J., Whitehead D., Horak J., Wanke D. and Weini S. 2007. The Gen Express global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses. *Plant J.* 50:347–63.

Kim B.C., Tennessen D.J. and Last R.L. 1998. UV-B-induced photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 15: 667–674

Krizek D., Kramer G., Upadhyaya A., and Mirecki R.. 1993. UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiol. Plant.* 88:350-358.

Landry L.G., Chapple C.C.S. and Last, R.L. 1995. Arabidopsis Mutants Lacking Phenolic Sunscreens Exhibit Enhanced Ultraviolet-B Injury and Oxidative Damage. *Plant Physiol.* 109:1159–1166.

Lau O.S., and Deng X.W. 2010. Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones. *Plant Biol.* 13: 571–577.

Li J., Ou-Lee T.M., Raba R., Amundson R.G. and Last R.L. 1993. Arabidopsis Flavonoid Mutants Are Hypersensitive to UV-B Irradiation. *Plant Cell* 5: 171–179.

Mackerness S., John C.F., Jordan, B. and Thomas, B. 2001. Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxid. *FEBS Lett.* 489:237–242.

Mewis I., Schreiner M., Nhi Ch., Krumbein A., Ulrichs C., Lohse M. and Zrenner R. 2012. UV-B Irradiation Changes Specifically the Secondary Metabolite Profile in Broccoli Sprouts: Induced Signaling Overlaps with Defense Response to Biotic Stressors. *Plant Cell Physiol* 53(9):1546-1560.

Neugart S., Zietz M., Schreiner M., Rohn S., Kroh L.W., Krumbein A. 2012. Structurally different flavonol glycosides and hydroxycinnamic acid derivatives respond differently to moderate UV-B radiation exposure. *Physiol Plant* 145: 582–593

Oravec A., Baumann A., Mate Z., Brzezinska A., Molinier J., Oakeley E.J., Adam E., Schäfer E., Nagy F. and Ulm R. 2006. Constitutively

Photomorphogenic is required for the UV-B response in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18: 1975–1990.

Seo P.J., Lee A.K., Xiang F. and Park C.M. 2008. Molecular and functional profiling of *Arabidopsis* pathogenesis-related genes: insights into their roles in salt response of seed germination. *Plant Cell Physiol.* 49: 334–344.

Shinklea J.R., Atkinsa A.K., Humphreya E.E., Rodgersa C.W., Wheelera S.L. and Barnesb W. 2004. Growth and morphological responses to different UV wavebands in cucumber (*Cucumis sativum*) and other dicotyledonous seedlings. *Physiologia Plantarum* 120: 240–248.

Stratmann J. 2003. Ultraviolet-B radiation co-opts defense signaling pathways. *Trends Plant Sci.* 8:526–33

Suesslin, C. and Frohnmeyer H. 2003. An *Arabidopsis* mutant defective in UV-B light-mediated responses. *Plant J* 33:591–601.

Tilbrook K., Arongaus A., Binkert M., Heijde M., Yin R. and Ulm R. The UVR8 UV-B Photoreceptor: Perception, Signaling and Response. 2013. *American Society of Plant Biologists*. The *Arabidopsis* Book, Number 11

Ulm R., Baumann A., Oravec A., Mate Z., Adam E., Oakeley E.J., Schafer E. and Nagy F. 2004. Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:1397–1402

Ulm R., Baumann A., Oravecz A., Máté Z., Adám E., Oakeley E.J., Schäfer E., and Nagy, F. 2004 . Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:1397–1402.

Wargent J.J., Gegas V.C., Jenkins G.I., Doonan J.H., and Paul N.D. 2009. UVR8 in *Arabidopsis thaliana* regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *The New Phytologist*, 183(2): 315–26.

Yuan Z., Hai P., Jing Y., De L., Xiao W., Yin G. and Lu T. 2010. Responses in the morphology, physiology and biochemistry of *Taxus chinensis* var. *mairei* grown under supplementary UV-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 98(2):152–158.