

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE ANATOMÍA VEGETAL

Efectos de la exposición breve de luz azul y roja sobre el desarrollo y anatomía foliar de *Beta vulgaris* L var. *cicla* Grupo Flavescens (Amaranthaceae)

www.bdigital.uia.ve

Trabajo especial de grado presentado por
Br. Genesis Johanna Rojas Alvarez
Como requisito para optar al título de
Licenciado en Biología
Tutora: Francisca Ely de Zamora

Mérida, Diciembre, 2020

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que por simple azar, como la vida misma, compartieron o comparten temporal y espacialmente este viaje llamado vida conmigo. De manera especial a mis padres José Rojas y Carmen Alvarez, quienes han sido los mejores maestros de vida y son mi fuente de tranquilidad y sensatez. A mis dos hermanas y sobrino, Cleomar Pereira, Gabriela Rojas y Andrés Pabón por ser compañeros de vida, que aunque suene vulgar, lo es todo. A la Universidad de los Andes y a todas las personas que laboran en ella, de manera particular a todos y cada uno de los profesores que impartieron conocimientos en mí, que a pesar de las circunstancias políticas, sociales y económicas se han mantenido con el amor inquebrantable por la ciencia y educación, en mi han generado una admiración y respeto inmensurable, en especial a mi tutora de tesis, la profesora Francisca Ely y a mis jurados de tesis, profesora Luz Thais y Carmen Azocar. Por último, a las personas que colaboraron para que en tiempos tan difíciles a nivel personal, de país y mundial inclusive esta meta personal haya podido cumplirse, mis abuelos Cecilia y Amado, mi tía Mayela, amigos como Alonso, Ponque, Vicente, Mafer, Edgar, Antonio, Simones, Oscar, Maracucho, Waro, Krisbel, Mary. Los quiero a todos, gracias totales.

RESUMEN

Según la Naciones Unidas, la población mundial aumentará en 2000 millones de personas para 2050, por lo que la optimización de la producción vegetal es y será un tema de gran importancia mundial. Estudios previos han demostrado que el suministro de luz azul y roja tiene un impacto positivo en la respuesta fotosintética y morfoanatómica en plantas cultivadas en condiciones de baja radiación y/o luz artificial. En el presente trabajo se estudió el efecto de la luz azul, roja y combinación de ambas de manera secuencial en el desarrollo de *Beta vulgaris* L var. *cicla*. Dicho efecto se evaluó al exponer a períodos breves de luz suplementaria azul (450 nm), roja (660 nm), azul + roja; antes y después del periodo de oscuridad, utilizando 10 plantas por cada tratamiento durante 30 minutos. Se evaluaron los cambios anatómicos foliares, biomasa y área foliar específica (AFE) al transcurrir 28 días de la exposición a las plantas con luces LEDs. Los caracteres morfoanatómicos evaluados fueron: altura y ancho de células epidérmicas adaxiales y abaxiales, altura y ancho de células del clorénquima, grosor de la hoja y del parénquima en empalizada y esponjoso, densidad estomática, altura y ancho del estoma y del poro estomático. Encontrándose los mayores valores en peso fresco y seco total y de raíz, así también en peso fresco de hoja en las plantas irradiadas con luz azul antes del periodo de oscuridad que además de poseer altos valores de densidad estomática en ambas caras, también presentaron los estomas en cara adaxial y abaxial con mayores dimensiones. Los datos que presentaron una distribución normal se analizaron estadísticamente mediante una prueba de ANOVA y test de Tukey entre los tratamientos, con un nivel de significancia de $p <0,05$, en caso distinto se realizó la prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de $p <0,05$, ambos tests utilizando el programa SPSS.

Palabras clave: LEDs, anatomía foliar, fotomorfogénesis, área foliar específica.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
Detección de luz en las plantas: Fotorreceptores y señalización.....	2
Fotorreceptores de luz azul/UV-A.....	4
Fototropinas (PHOT 1 y PHOT2).....	4
Criptocromos (CRY1 y CRY2).....	9
ZTL/FKF1/LKP2.....	10
Fotorreceptores de luz roja/rojo lejano.....	11
Fitocromo (PHYA-E).....	11
LEDs: una herramienta para el mejoramiento de los cultivos.....	15
Efectos de luces LEDs en la anatomía foliar:	19
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVOS.....	23
Objetivo general.....	23
Objetivos específicos.....	24
METODOLOGÍA.....	24
1. Material biológico.....	24
2. Siembra y trasplante de semillas de <i>Beta vulgaris</i> L. var <i>cicla</i>	26

3. Tratamientos con LEDs azul, rojo y azul + rojo en <i>Beta vulgaris</i> L. var <i>cicla</i>	28
4. Peso fresco y peso seco total y particionado, área foliar específica (AFE).	31
4.1. Determinación del área foliar específica (AFE).....	31
5. Estudio anatómico foliar comparado en las plantas de <i>Beta vulgaris</i> L. var <i>cicla</i>	32
6. Análisis estadísticos realizados.....	34
RESULTADOS.....	35
1. Influencia de la irradiación con lámparas led azul y rojo sobre la biomasa y área foliar específica (AFE):	35
2. Influencia de la irradiación con lámparas led azul y rojo sobre sobre la anatomía foliar.....	39
2.1. Epidermis abaxial y adaxial.....	44
DISCUSIÓN.....	51
Producción de Biomasa.....	51
Área foliar.....	60
Anatomía foliar.....	63
Influencia de la irradiación con luz artificial azul y/o roja sobre el complejo estomático....	71
CONCLUSIONES.....	77
REFERENCIAS.....	78

APÉNDICE.....	89
---------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro electromagnético. La longitud de onda y la frecuencia se encuentran inversamente relacionadas.....	3
Figura 2. Los cuatro tipos de fotorreceptores en plantas que absorben longitudes de onda en el espectro azul y rojo.	4
Figura 3. Esquema de los diferentes dominios de los fotorreceptores de luz azul como fototropinas, criptocromos, ZTL/FKF1/LKP2 y luz roja en el caso de fitocromos.	5
Figura 4. Señalización celular en las células oclusivas del complejo estomático en respuesta a luz azul.	8
Figura 5. Modelo del rol de JMJ20 y JMJ22 en la germinación de semillas mediada por PHYB.	14
Figura 6. Respuestas generadas en los fitocromos por absorción de luz roja.	15
Figura 7. Cultivar de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> (comúnmente conocida como acelga) utilizados en el presente estudio.....	25
Figura 8. Lámpara construida en el laboratorio de electrónica de CITEC ULA.....	29
Figura 9. Tratamientos con bombillos LEDs azul, rojo y azul + rojo y el control que se aplicaron a plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i>	30

Figura 10. Pesos frescos y secos totales y particionados obtenidos en plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.	37
Figura 11. Área foliar específica (AFE) determinada en plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.	38
Figura 12. Secciones transversales foliares con aumento óptico de (40x) de plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.	41
Figura 13. Impresiones epidérmicas adaxiales de hojas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.....	45
Figura 14. Impresiones epidérmicas abaxiales de hojas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.....	46
Figura 15. Impresiones epidérmicas adaxiales de hojas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.....	47
Figura 16. Raspados de epidermis adaxial de hojas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> observado a (400x) sometidas a tratamientos con lámparas LEDs roja antes (AR y DR).....	49
Figura 16. Longitudes de ondas percibidas por las plantas en el transcurso del día de manera artificial a través de luces LEDs y natural por medio del sol asociado a los procesos fisiológicos que desencadenan, en los tratamientos de luz azul antes del periodo de oscuridad (AB) y luz azul/rojo después del periodo de oscuridad.....	56

Figura 17. Modelo de regulación del desarrollo estomático a través de la luz roja, roja lejano y azul.....	73
Figura 18. a. Proceso de germinación de semillas en bandejas de poliestireno b. Bolsas plásticas con el sustrato.....	89
Figura 19. Proceso de crecimiento de las plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> antes de comenzar los tratamientos LEDs.	90
Figura 20. a. Plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> etiquetadas para los diferentes tratamientos LEDs. b. Plantas irradiadas por luz led azul c. Plantas irradiadas por luz led roja.....	90

ÍNDICE DE TABLAS

www.bdigital.ula.ve

Tabla 1. Principales fotorreceptores de luz azul y roja, con las respuestas generadas en plantas y sus mecanismos de acción.....	21
Tabla 2. Valor nutricional de una variedad común de acelga.	26
Tabla 3. Valores promedio y desviación estándar de los caracteres anatómicos estudiados en secciones foliares de plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.	42
Tabla 4. Valores promedio y desviación estándar de los caracteres anatómicos correspondientes al grosor de hoja en secciones foliares transversales de plantas de <i>Beta vulgaris</i> L var. <i>cicla</i> sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.	43

Tabla 5. Valores promedio y desviación estándar de la densidad estomática en la cara
adaxial y abaxial de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con
lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.....48

Tabla 6. Valores promedio y desviación estándar del largo, ancho y tamaño del poro de los
estomas en epidermis adaxial y abaxial hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a
tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.....50

www.bdigital.ula.ve

INTRODUCCIÓN

Según el informe de las Naciones Unidas presentada en junio del 2019, la población mundial aumentará su cifra actual de 7,7 mil millones a 9,7 mil millones para el año 2050, lo que equivale un incremento del 30% (United Nations, 2019). Estudios sugieren que la producción mundial de cultivos debe duplicarse para 2050 para satisfacer las demandas proyectadas del crecimiento poblacional, en donde se ha propuesto aumentar el rendimiento de los cultivos en lugar de despejar más tierras para la agricultura (Ray *et al.*, 2013). Bajo este escenario, es imprescindible incorporar diversas herramientas para el mejoramiento vegetal. El mejoramiento genético ha demostrado gran eficacia; sin embargo, existen restricciones totales o parciales del cultivo de GMO en muchos países que forman parte de la Unión Europa, el Medio Oriente (Raman, 2017) y Venezuela. En este sentido, el uso de herramientas lumínicas representa una alternativa para la problemática actual, siendo los LEDs “diodos emisores de luz” una de las mejores opciones, dada las ventajas que aportan respecto a las fuentes de luz tradicionales, principalmente: estrecho espectro de luz, emisión de fotones no térmicos, mayor duración como la fuente de luz artificial y ahorro energético (Hasan *et al.*, 2017). Adicionalmente, no siempre es factible disponer de extensiones de terreno para establecer cultivos de rotación corta como la acelga, o realizar varias cosechas en un año. Esta realidad ha impulsado el establecimiento de cultivos bajo cubierta y particularmente en espacios pequeños, condiciones en las cuales se suplementa luz natural o luz blanca artificial con espectros complementarios proporcionados por lámparas LED. Por dichas razones, en el siguiente trabajo se pretende evaluar el efecto de luz suplementaria sobre el rendimiento de cultivo de acelga a través del uso de LEDs de luz azul, azul + rojo y rojo, exponiéndolos durante media hora antes y después del periodo de

oscuridad, esperándose cambios morfoanatómicos foliares, y en la producción de biomasa radicular y del vástago, al cabo de 6 semanas transcurridas a partir de la fecha de trasplante.

- **Detección de luz en las plantas: Fotorreceptores y señalización.**

La condición sésil de las plantas condiciona que los factores ambientales generen una fuerte influencia en su fisiología y desarrollo. La radiación incidente es uno de los factores ambientales que más influyen en el desarrollo y la fisiología de las plantas, puesto que afecta casi todos los pasos de su ciclo de vida (Paik y Huq, 2019).

Por definición, la luz es una partícula llamada fotón pero se comporta también como una onda, por lo que posee características como la longitud de onda y la frecuencia, ambas determinarán la energía que estará contenida en un fotón y dicha energía será directamente proporcional a la frecuencia emitida por el fotón. La luz solar contiene fotones con diferentes frecuencias (Figura 1); sin embargo, nuestros ojos solo detectan un intervalo muy pequeño, denominado región visible del espectro electromagnético, la cual se encuentra entre los 400 y 700 nm. Para adaptarse y sobrevivir eficientemente a su entorno cambiante, las plantas desarrollaron formas sofisticadas de detectar señales externas y traducirlas en vías de señalización internas (Paik y Huq, 2019) y desarrollaron diversos pigmentos y fotorreceptores que absorben longitudes de ondas específicas dentro del espectro anteriormente mencionado (Taiz y Zeiger, 2002).

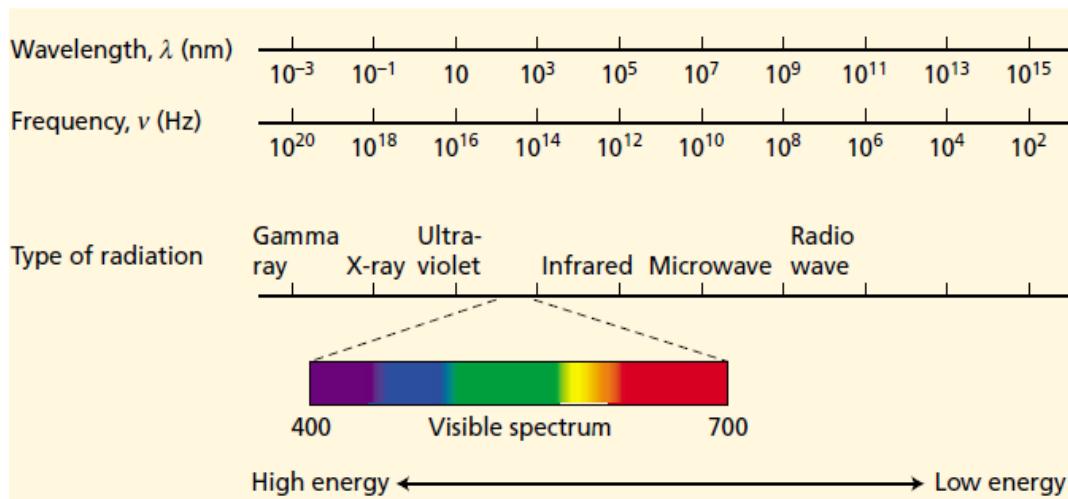


Figura 1. Espectro electromagnético. La longitud de onda y la frecuencia se encuentran inversamente relacionadas. Nuestros ojos perciben un intervalo estrecho de radiación de longitud de onda, llamada la región visible que va desde los 400nm hasta los 700nm. Fuente: Taiz y Zeiger (2002).

La exposición a distintas longitudes de onda genera diferentes respuestas fisiológicas que afectan tanto las tasas de fotosíntesis como procesos fisiológicos de las plantas como la germinación, la des-etiolación, el crecimiento direccional, el movimiento de orgánulos, la floración, fructificación y senescencia (Kong y Okajima., 2016). En *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. (Brassicaceae) se han descrito 5 clases de fotorreceptores (Figura 2); los que perciben luz UV-B llamados UVR8, aquellos que perciben la luz azul/UV-A (450-500 nm), que corresponden a las fototropinas (*PHOT1* y *PHOT2*), criptocromos (*CRY1* y *CRY2*), los ZTL (Zeitlupe)/FKF1(Flavin Binding Kelch-Repeat F-Box)/LKP2 (LOV Kelch Protein-2) y aquellos que absorben en el espectro correspondiente al rojo/rojo lejano (600-750 nm), representados por los fitocromos (*PHY A-E*). Dichos receptores y mecanismos moleculares específicos generan respuestas particulares ante un estímulo lumínico en el rango de la luz azul y luz roja que son los de interés para este trabajo, cuyos efectos principales se resumen en la Tabla 1 (Paik y Huq, 2019; Kong y Okajima, 2016; Galvao y Fankhauser, 2015).

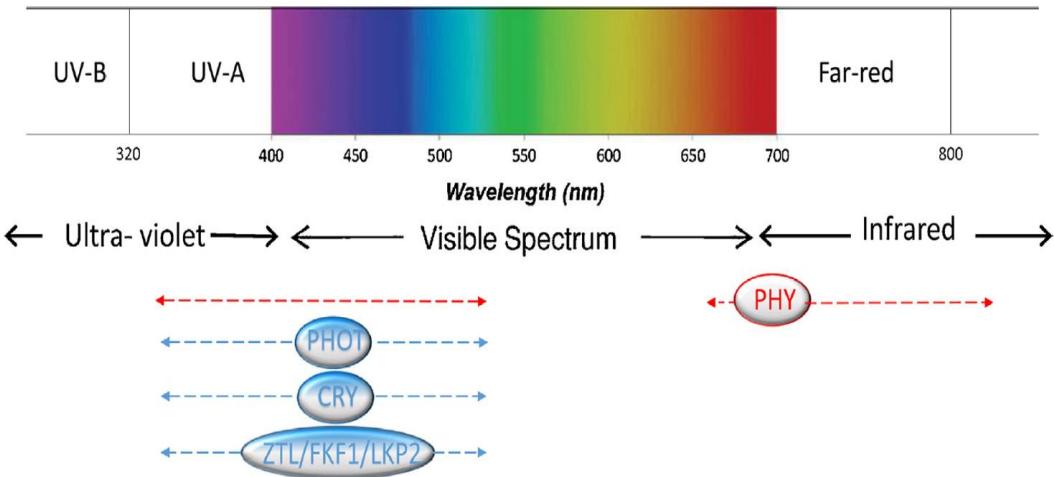


Figura 2. Los cuatro tipos de fotorreceptores en plantas que absorben longitudes de onda en el espectro azul y rojo. Fuente: Huché-Thélier *et al.* (2015).

- **Fotorreceptores de luz azul/UV-A:**

1. **Fototropinas (PHOT 1 y PHOT2):**

Son receptores que se activan en el rango de radiación 450-500 nm y su estructura proteica puede separarse en dos segmentos: el extremo N-ter, en el cual se encuentra el dominio fotosensorial y el extremo C-ter, que contiene el dominio Ser/Thr quinasa. El dominio fotosensorial contiene a su vez, dos dominios con 110 aminoácidos muy similares, llamados LOV1 y LOV2 (dominios que responden a estímulos de luz y cambios en concentraciones de oxígeno y de voltaje). Estos dominios LOV están unidos al cofactor Flavin Mononucleótido (FMN) y funcionan como sensores de luz azul (Meisel *et al.*, 2011, Christie, 2007). *A. thaliana* posee dos fototropinas: Phot1 y Phot2, las cuales responden a intensidades de luz diferentes; Phot1 responde a flujos bajos de luz azul ($<1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mientras que Phot2 responde a flujos medios y altos junto con Phot1 ($1-100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Huché-Thélier *et al.*, 2015; Morrow *et al.*, 2018).

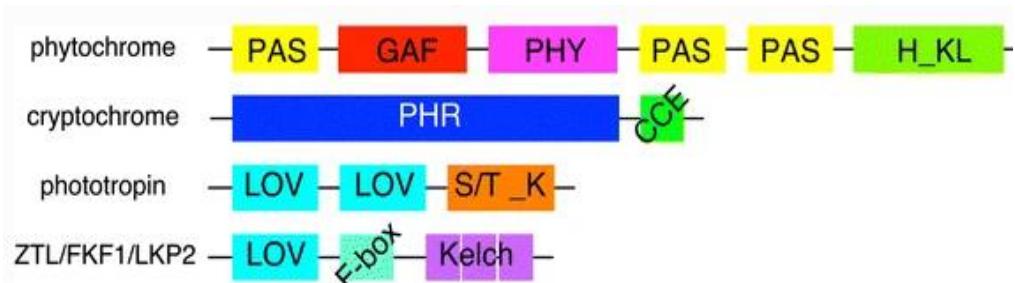


Figura 3. Esquema de los diferentes dominios de los fotorreceptores de luz azul como fototropinas, criptocromos, ZTL/FKF1/LKP2 y luz roja en el caso de fitocromos. PAS, Per-Ant-Sim; PHY, región del fitocromo; H_KL, dominio histidina-kinasa like; PHR, CCE, extensión C-terminal; S/T_K dominio quinasa Serina/Treonina; Kelch, domino Kelch. Fuente: Kong y Okajima (2016).

Entre las respuestas inducidas por las fototropinas en las plantas encontramos el fototropismo de luz azul y las respuestas relacionadas en el incremento del rendimiento fotosintético de las plantas, mediante una mayor apertura estomática y el movimiento de cloroplastos (Kong y Okajima, 2016; Christie, 2007).

A nivel molecular, las fototropinas intervienen en las respuestas fisiológicas previamente mencionadas; siendo un paso fundamental para que ocurra la señalización celular, la unión covalente de FMN a los dominios LOV1/2 tras la fotoactivación, y esta unión desencadena cambios conformacionales que inducen la liberación del dominio quinasa de la acción inhibitoria del dominio fotosensorial, generando la autofosforilación de un par de serinas en el bucle de la proteína quinasa (Meisel *et al.*, 2011). Dicha fosforilación es imprescindible para la señalización aguas abajo de las respuestas generadas por fototropinas, probablemente a través del reconocimiento del sustrato (Inoue y Kinoshita, 2017) o mediando la unión a otras proteínas involucradas en la señalización (Christie, 2007).

En el fototropismo del hipocótilo, se ha identificado una proteína clave llamada NON-PHOTOTROPIC HYPOCOTYL 3 (NPH3) que interactúa con phot1, regulando la

redistribución de auxinas a través de la proteólisis mediada por ubiquitina o la reubicación de proteínas dianas. Esta redistribución de auxinas es desigual en la planta; la mayor proporción se concentra en la porción irradiada de la planta, lo cual induce la elongación celular y origina una curvatura. En la percepción de fototropismo de la raíz, la proteína “Root Phototropism 2” (RPT2) que es homóloga a NPH3 y está asociada al complejo phot1-NPH3 en la membrana plasmática, dirige los eventos de señalización fototrópica modulando el estado de fosforilación de NPH3 (Sullivan *et al.*, 2016), siendo su estado no fosforilado el responsable de desencadenar la señalización que inducirá el fototropismo en raíz (Morrow *et al.*, 2018).

Las fototropinas a su vez, median la acción de las expansinas en el fototropismo, las cuales generan la expansión celular a causa de la debilitación de la pared celular, gracias a un incremento en la expresión de esta enzima del lado más elongado de la planta (Chen *et al.*, 2013). Otros de los involucrados son los transportadores de auxina o proteínas PIN; los mutantes de dichos transportadores presentan una respuesta disminuida, lo cual sugiere que múltiples proteínas transportadoras están involucradas en la redirección de auxina y por tanto, en la percepción del fototropismo (Sullivan *et al.*, 2016).

En la apertura estomática, posterior al estímulo lumínico y la presencia de la forma activa de la fototropina, se produce la fosforilación de una proteína quinasa “BLUE LIGHT SIGNALING 1” (BLUS1), la cual transmite indirectamente la señal a la proteína fosfatasa tipo 1 (PP1) y a su subunidad reguladora PRSL1. Luego, una proteína quinasa no identificada, fosforila el penúltimo aminoácido que corresponde a treonina (Thr) en el C-ter de la H⁺-ATPasa, localizada en la membrana plasmática de las células oclusivas del

complejo estomático, generando la unión de la proteína 14-3-3 y la activación de H⁺-ATPasa (Inoue *et al.*, 2017).

La H⁺-ATPasa activada impulsa el transporte de H⁺ través de la membrana plasmática hiperpolarizándola. Esta hiperpolarización activa los canales de K⁺, induciendo la entrada de este ion a las células oclusivas del complejo estomático; en consecuencia, entran a la célula nitratos, malatos⁻² e iones de Cl⁻, manteniendo así el potencial de membrana. Los iones K⁺ y Cl⁻ son transportados posteriormente hacia la vacuola a través de los intercambiadores NHX1 y NHX2, que facilitan el transporte K⁺/H⁺ y el establecimiento del canal de cloruro c (CLCc). La acumulación de estos iones en la vacuola disminuye el potencial hídrico de las células oclusivas del complejo estomático, dirige el flujo de agua hacia las mismas, provocando el aumento en la turgencia de las células, y en consecuencia, la apertura estomática. Un papel similar es desempeñado por el almidón en los cloroplastos de las células oclusivas, el cual es degradado a malato⁻² por acción de la fototropina, el malato transportado hacia la vacuola provoca una disminución en el potencial hídrico, y del mismo modo, provoca la apertura estomática por efecto del incremento en el turgor de las células oclusivas (Inoue *et al.*, 2017; Hiyama *et al.*, 2017).

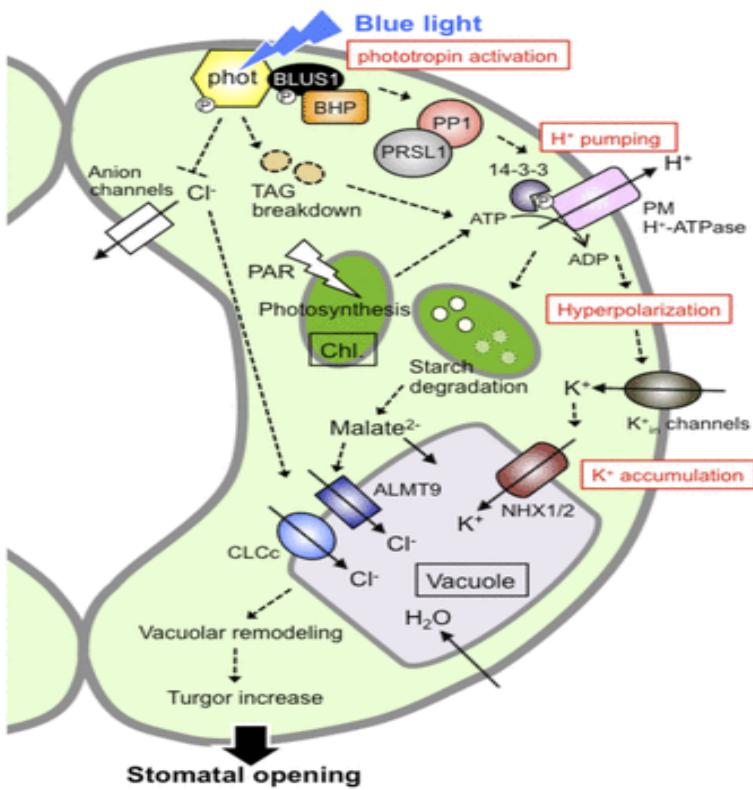


Figura 4. Señalización celular en las células oclusivas del complejo estomático en respuesta a luz azul. Fuente: Inoue *et al.* (2015).

Los movimientos dinámicos de fotorrelocalización de los cloroplastos cuando son expuestos a diferentes intensidades de luz, son también regulados por las fototropinas; las radiaciones bajas ($\leq 40 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) inducen la acción de phot1 y phot2, cuya acción se refleja en la acumulación de los cloroplastos en la superficie de las células del parénquima en empalizada en las hojas, maximizando la captura de luz. Por el contrario, la exposición de las hojas a mayores intensidades de luz azul ($\geq 40 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), donde solo phot2 media el rearreglo de los cloroplastos, posicionándose de manera paralela a la dirección de la luz, lo cual minimiza el daño en el aparato fotosintético (Kong *et al.*, 2016; Huché-Thélier *et al.*, 2015).

Esta fotorrelocalización, es gracias a la rápida reorganización de los filamentos de cp-actina, de acuerdo con la dirección e intensidad de la luz azul incidente. Estas reorganizaciones son

producidas por la polimerización de los filamentos de cp-actina, una vez que se produce la inserción de G-actina llevada a cabo por la proteína de membrana externa llamada CHUP1 (Kong y Wada, 2016).

2. Criptocromos (CRY1 y CRY2):

Los criptocromos se encuentran asociados a dos cromóforos: Flavina Adenina Dinucleótido (FAD) y Metinil-tetrahidrofolato (MTHF) en su dominio PHR (región homóloga a fotoliasa; Figura 3) (Huché-Thélier *et al.*, 2015; Paik y Huq, 2019). Tras la absorción de energía azul por MTHF, ésta es transferida al FAD oxidado, donde se acumula la forma reducida y activa de FADH. Tras la activación, los cambios conformacionales generados en la proteína CRY permiten que el dominio efector de CRY, representado por la extensión C-terminal, interactúe directamente con las proteínas dianas involucradas en las distintas cascadas de señalización, que en cebada originan respuestas como la des-etiolación, la dormancia y la germinación de semillas, en el caso de procesos regulados por cry1, control fotoperiódico de la floración y la regulación en la senescencia foliar en soja regulado por cry2 respectivamente (Huché-Thélier *et al.*, 2015).

En la floración mediada por luz azul se han encontrado diversos mecanismos, uno de ellos se basa en la interacción de CRY2 con los factores de transcripción “Basic helix–loop–hélix” (bHLH) (CIB1, 2, 4, 5), lo que conlleva a su unión a promotores de genes que están involucrados en la floración como FLOWERING LOCUS T (FT), activando su transcripción (Huché-Thélier *et al.*, 2015). Otro mecanismo involucra la interacción de CRY1 con la proteína SPA1 (SUPPRESSOR OF PHYTOCHROME A), lo que inhibe la interacción SPA1-COP1 (SUPRESOR DE FITOCROMO A) y la degradación de factores de transcripción. Por tanto, se genera la acumulación de factores de transcripción, como

HY5 y CONSTANS (CO) en respuesta a la luz azul, los cuales promueven la des-etiolación y la floración (Galcao y Fankhauser, 2015).

En la regulación de la senescencia foliar mediada por luz azul, CRY2 inhibe la unión del factor de transcripción “CRYPTOCHROME-INTERACTING basic helix-loop-helix 1” (CIB1) al promotor de genes que regulan la senescencia foliar (Galcao y Fankhauser, 2015).

Otra respuesta generada por la luz azul, es la inhibición de la elongación del hipocótilo, donde CRY1 interactúa con AUX/IAAs, inhibiendo la interacción del receptor de auxina TIR1 con AUX/IAAs, impidiendo que se lleve a cabo la elongación celular en el hipocótilo (Xu *et al.*, 2018).

3. ZTL/FKF1/LKP2:

“Zeitlupe (ZTL)/ Flavin-binding, Kelch repeat, F-box (FKF1)/ LOV kelch protein2 (LKP2)” es otra clase de receptor de luz azul asociado al cromóforo (FMN). Posee tres dominios: LOV, F-box en el N-terminal y un dominio Kelch en el extremo C-terminal. El dominio LOV se encuentra unido de manera no covalente al cromóforo FMN, el dominio F-box interactúa con el complejo de ubiquitinación E2-E3, y el dominio Kelch contiene 6 secuencias repetidas en tandem formando una hélice-b (Figura 3) (Huché-Thélier *et al.*, 2015).

La transducción de señales ocurre principalmente por la alteración en la actividad del complejo ligasa SCF E3, dentro de sus respuestas se encuentra la regulación del reloj circadiano a través de ZTL y la regulación de la floración dependiente del fotoperiodo por FKF1. En la regulación del reloj circadiano por ZTL, se ha determinado que ocurre por dos

mecanismos, el primero se basa en la interacción de ZTL con “PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 5” (PRR5) y “TIMING OF CAB EXPRESSION 1” (TOC1), permitiendo que ambos sean marcados y degradados por el proteosoma. La segunda vía requiere la interacción de ZTL con “GIGANTEA”(GI) por estímulos lumínicos de luz azul, lo que modula la degradación de TOC1. PRR5 y TOC1 son los factores de transcripción que tienden a reprimir genes que generalmente se expresan en horas de la mañana (Inoue *et al.*, 2017). La regulación de la floración involucra cambios en la abundancia del factor de transcripción CO (CONSTANS), donde la luz azul estabiliza su concentración facilitando la transcripción del gen FT (FLOWERING LOCUS T), que es un inductor floral (Paik y Huq, 2019).

- **Fotorreceptores de luz roja/rojo lejano:**

1. **Fitocromo (PHYA-E):**

Son fotorreceptores capaces de detectar radiación en el rango rojo/rojo lejano (600-750nm) y azul. Su estructura es homodimérica o heterodimérica; consisten en una región fotosensorial N-terminal que se une covalentemente a un cromóforo de tetracromobilina (PfB) y una región C-terminal, involucrada en la dimerización que contribuye a la retransmisión de señalización celular (Meisel, 2011). Existe bajo dos formas, la forma en la que se sintetiza, presente en el citosol e inactiva (Pr), que tras absorber luz roja sufre cambios conformacionales adquiriendo su forma activa (Pfr). Este cambio conformacional es reversible y ocurre cuando la planta es irradiada con luz en el rango del rojo lejano (Paik y Huq, 2019; Taiz y Zeiger, 2002; Galcao y Fankhauser, 2015; Huché-Thélier *et al.*, 2015).

Los fitocromos en su forma activa son trasladados al núcleo a través de diferentes mecanismos; en el caso de phyA requiere de la unión a FAR-RED ELONGATED

HYPOCOTYL1 (FHY1) o FHY1-LIKE (FHL) para que ocurra el transporte al núcleo inducido por la exposición a luz roja/rojo lejano. En contraste, el phy B se transloca al núcleo solo en respuesta a la luz roja, a través de una señal de localización nuclear propia o por la unión a factores de transcripción involucrados en distintas señalizaciones celulares (Park *et al.*, 2018; Inoue *et al.*, 2016). Una vez que se ubica en el núcleo, las respuestas generadas se llevan a cabo por regulación génica a través de factores de transcripción (Inoue *et al.*, 2016). Entre esas respuestas inducidas por luz roja se encuentran: la germinación de semillas, la des-etiolación, la percepción de gravitropismo, la regulación de la floración y del reloj circadiano (Paik y Huq, 2019). A diferencia de phy B, el fotoreceptor phyA tiene un rol menor en respuesta de luz azul ocurre de manera dependiente o independiente de los criptocromos. Algunas respuestas de phyA inducidas por luz azul se han identificado en *Arabidopsis* (Huché-Thélier *et al.*, 2015), dado que se requiere de la acción de phyA para generar una respuesta fototrópica robusta bajo niveles de flujo radiación muy bajos ($0,01 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$); en contraste, cuando se expone a niveles de DFF mayores ($> 1,0 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), phyB y phyD pueden promover la respuesta fototrópica (Whippo y Hangarter, 2004), también, la inducción irreversible de la germinación de semillas (Huché-Thélier *et al.*, 2015).

Las respuestas inducidas por el fitocromo son mediadas por dos vías de señalización. La primera, se caracteriza por la interacción del fitocromo activo con la familia proteica “SUPPRESSOR OF PHYA-105” (SPA), la cual promueve la disociación del complejo (COP1) “CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC1” /SPA. Esta disociación promueve la acumulación de factores de transcripción tales como, “ELONGATED HYPOCOTYL5” (HY5), “LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1” (HFR1), y “LONG AFTER FAR-RED

LIGHT 1” (LAF1) los cuales promueven cambios morfogenéticos (Wang y Wang, 2015).

En la segunda vía, intervienen los factores de transcripción (PIFs) “PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS” (Inoue *et al.*, 2016), que interactúan con el fitocromo activo a través de un motivo conservado llamado APB (Wang y Wang, 2015), el cual induce la degradación de los PIFs a través de su fosforilación, ubiquitinación y posterior degradación mediada por el proteasoma (Wang y Wang, 2015; Pham *et al.*, 2018). La degradación de los PIFs promueve la supresión de las actividades de “CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC/DE-ETIOLATED/FUSCA” (COP/DET/FUS), que actúan como represores morfogenéticos, esta supresión va acompañada por la acumulación de varios factores de transcripción que promueven la fotomorfogénesis como HY5, HYH, HFR1 y LAF1 (Wang y Wang, 2015). Los cambios en la abundancia de PIFs generan distintas respuestas como la germinación de semillas, des-etiolación de plántulas, inhibición de la elongación del hipocótilo y respuestas de evasión a la sombra (Figura 6) (Inoue *et al.*, 2016).

En la germinación de semillas (Figura 5), tras la irradiación con luz roja, activación y traslocación del phyB al núcleo, se induce la degradación de PIL5. La disminución de los niveles de la proteína PIL5 provoca la regulación negativa de la transcripción de “SOMNUS”(SOM), que es un represor del proceso germinativo y la subsiguiente transcripción de los genes JMJ20 y JMJ22. Los genes JMJ20 y JMJ22 inducen un incremento en la síntesis de las desmetilasas HR, que, a su vez, actúan sobre la expresión de los loci GA3ox1/GA3ox2, induciendo la producción de GA que da como resultado la germinación de la semilla (Cho *et al.*, 2012).

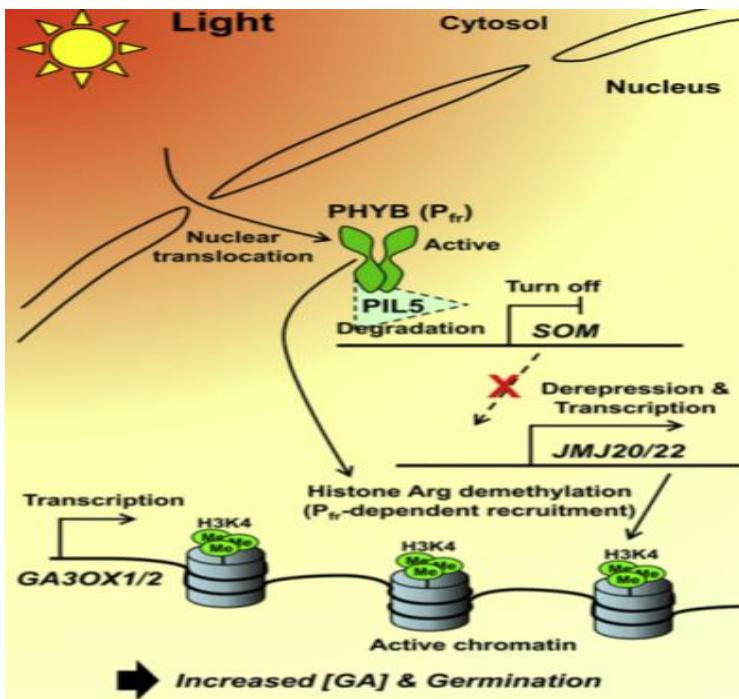


Figura 5. Modelo del rol de JMJ20 y JMJ22 en la germinación de semillas mediada por PHYB. Fuente: Cho *et al.* (2012).

En condiciones de sombra ocurre una reducción de la proporción del rojo: rojo lejano (R:FR) pudiendo desencadenar en la planta el síndrome de evasión a la sombra (SAS), que incluye el alargamiento del hipocótilo y los entrenudos, la supresión de la ramificación y la aceleración en la floración. La planta al ser irradiada con baja proporción R:FR, desactiva los phys, principalmente phyB, lo que lleva a la estabilización de PIF3, PIF4, PIF5, y PIF7 por desfosforilación, facilitando la unión directa de PIF4, PIF5 y PIF7 al promotor de genes de auxina (como ejemplo los genes TAA1 y YUCCA) y genes que responden a auxinas (AUX/IAA genes), induciendo en la planta el incremento en los niveles de IAA libre en los cotiledones (al transcurrir 1 h en la sombra), la cual es transportada hacia el hipocótilo, generando la elongación del peciolo y vástago (Wang y Wang, 2015).

La aceleración de la floración también se da por efecto del phyB, y ocurre en situaciones donde el radio R:FR es bajo. La reducción en la actividad del phyB genera la acumulación

del factor de transcripción CO y en consecuencia, un incremento en la expresión del gen FT, que actúa como un inductor floral (Wang y Wang, 2015).

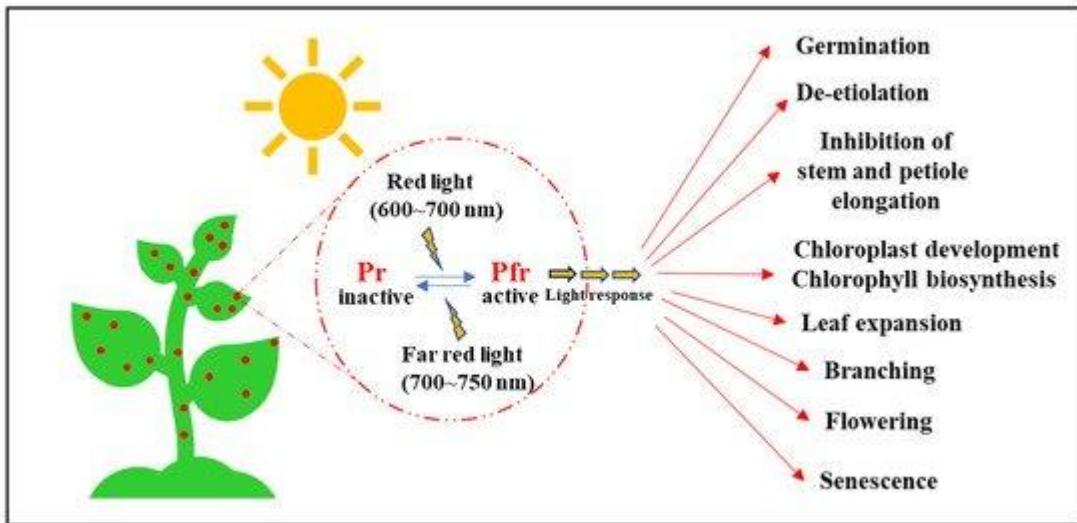


Figura 6. Respuestas generadas en los fitocromos por absorción de luz roja, así mismo se observan los dos estados conformativos que presenta dicho fotorreceptor, siendo estos, su estado activo causado por absorción de luz roja y su estado inactivo tras absorber luz roja lejano. Fuente: Tripathi *et al.* (2019)

- **LEDs: la herramienta para el mejoramiento de los cultivos:**

La calidad de luz influye en el crecimiento de las plantas y su morfogénesis; sin embargo, la respuesta puede variar considerablemente en función de cada especie. Dicha respuesta también dependerá de la intensidad lumínica, intervalo de tiempo y hora del día en la que se ha expuesto la planta a la luz empleada, la longitud de onda de la luz artificial utilizada y las variaciones metodológicas de cada experimento. Respecto al uso de LEDs de luz roja o azul de manera simultánea o independiente para el mejoramiento de cultivos, existen resultados muy diversos. Entre los más relevantes, podemos mencionar los que se describen a continuación.

Hogewoning *et al.* (2010), estudiaron curvas de dosis-respuesta fotosintética y características relacionadas con el desarrollo de las hojas de pepino (*Cucumis sativus L.*,

Cucurbitaceae), cultivadas bajo las mismas condiciones de radiación, pero con diferentes proporciones de luz roja y azul a través de LEDs. En dicho estudio, las mayores tasas de asimilación de carbono (A_{max}) se obtuvieron cuando la proporción de luz azul/roja era del 50%, mientras que las menores tasas se observaron cuando se expusieron exclusivamente a luz roja. El incremento de A_{max} producto de la exposición progresiva de luz azul (hasta alcanzar un 50%) se asoció con incrementos en la masa foliar por unidad de área foliar, contenido de nitrógeno por área, contenido de clorofila por área y conductancia estomática.

Kuno *et al.* (2017), midieron el efecto de distintos patrones de radiación con LEDs de luz roja y azul en las hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L., Asteraceae). Los patrones de radiación utilizados por estos autores fueron los siguientes: radiación luz azul + luz roja de manera simultánea durante 12 horas; luz roja 4 horas + luz roja/azul 8 horas + azul 4 horas; luz roja 8 horas + luz roja/azul 4 horas + 8 horas luz azul; luz roja 12 horas + 12 horas luz azul de manera separada. Este estudio que involucró diferentes tiempos de exposición reveló que los mejores resultados se obtuvieron en el ensayo que abarcó los mayores intervalos de separación entre la radiación con luz roja y azul, dado que se obtuvieron valores más altos de peso fresco y seco de las hojas en lechuga.

Una alternativa para mejorar el rendimiento del cultivo, es exponer brevemente las plantas antes y después del periodo de oscuridad (APO y DPO, respectivamente) a luz monocromática roja y azul, que son longitudes de ondas que influyen en el proceso de fotosíntesis.

Al igual que con el uso de LEDs de luz roja y azul de manera simultánea o independiente, existen resultados divergentes en los estudios realizados hasta la fecha; Sung y Takano (1997), encontraron que la masa fresca del vástago, área foliar y diámetro del vástago de

pepino (*Cucumis sativus*) fueron significativamente mayores en plantas irradiadas con luz azul después del periodo de oscuridad (DPO), comparadas con plantas tratadas con luz roja (DPO) después de dicho período, o plantas que no recibieron luz suplementaria. Estos autores también reportaron un incremento en la conductancia estomática, tasas de transpiración y tasas de fotosíntesis en las plantas tratadas exclusivamente con luz suplementaria azul.

Sung e Hirano (1998), también caracterizaron el tiempo de exposición e intensidad óptima de luz azul suplementaria (DPO) en pepino y encontraron que las mayores tasas de crecimiento, conductancia estomática (Gs), transpiración (E) y tasa neta fotosintética estaban en el intervalo de radiación de $30-100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, y que dichas tasas incrementaban hasta en un 60% al compararla con el control cuando eran expuestas durante $5 \text{ min/ } \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Por otro lado, Hanyu y Shoji (2002), obtuvieron mejores resultados en el peso seco, peso seco particionado, altura de la planta y área foliar específica al trabajar con *Spinacia oleracea* L. (Amaranthaceae) en los tratamientos donde utilizaron lámparas fluorescentes de luz azul, roja y verde, al final, mitad y comienzo del período de oscuridad respecto al control, el cual estaba conformado por plantas expuestas únicamente a lámparas fluorescentes de luz blanca. Asimismo, evaluaron el tiempo de exposición, con valores de 6 horas y 30 minutos, y reportaron una aceleración en el crecimiento cuando el tiempo de exposición era de 30 minutos, aunado a una irradiación de luz roja antes del período de oscuridad (APO) y luz azul después del período de oscuridad (DPO), encontrando mayor peso específico, peso seco total, altura de las plantas y área foliar específica.

Se ha propuesto, que el incremento en el rendimiento de los cultivos generadas por la azul está relacionada con una rápida inducción de la apertura estomática causada por la alta sensibilidad de los estomas a la luz azul a través de las fototropinas, esta apertura estomática a primeras horas del día podría aumentar la actividad fotosintética general de las plantas, al minimizar las limitaciones a la difusión del CO₂ (Chinchilla *et al.*, 2018).

El estudio realizado por Fraszczak (2013), realizado en eneldo (*Anethum graveolens* L., Apiaceae) contradice el estudio anterior, dado que obtuvo los mayores valores de peso fresco, área foliar y altura de la planta en el grupo de plantas tratadas con luz roja (DPO) al cabo de 28 días, y los menores valores en el grupo de plantas expuestas a luz azul (APO).

Recientemente, Chichilla *et al.* (2018), encontraron resultados opuestos en lechuga, obteniendo mayor área foliar y masa fresca del vástagos en plantas expuestas a luz azul antes del período de oscuridad (ADO), en comparación con las plantas expuestas a tratamientos de luz roja, azul o blanca (DPO), o luz roja y blanca (ADO). Asimismo, encontraron que la conductancia estomática (Gs) y transpiración (E) fueron un 34% y 42% más altos en los tratamientos que recibieron luz suplementaria antes de un período de oscuridad (APO) y el grupo control.

Es importante señalar que al comparar todos los estudios con luz suplementaria mencionados, encontramos diferencias en las respuestas de las plantas expuestas a longitudes de onda de luz azul y roja, así como diferencias dependiendo del tiempo de exposición y de la exposición antes o después del período de oscuridad, las cuales pueden estar relacionadas con las características particulares de cada especie. Es por ello fundamental determinar para cada cultivo el momento del día idóneo para la exposición a luz suplementaria, el tipo de longitud de onda en particular (luz roja, azul o ambos) y la

duración de la exposición a la fuente de luz suplementaria. En este estudio en particular, se experimentará con un cultivar de *Beta vulgaris* L var. *cicla* (Figura 6), específicamente acelga. Este cultivar ha sido relativamente poco estudiado en el ámbito de mejoramiento de cultivos, menos aún con luz suplementaria proporcionada por LEDs, lo cual podría contribuir a impulsar su cultivo, ya que presenta un alto contenido nutricional, rico en fibras, azúcares y un valor calórico moderado, que presenta las ventajas de presentar un turno corto y además de bajo costo (Straus *et al.*, 2012). Teniendo en consideración lo anteriormente expuesto, consideramos importante evaluar el efecto de tratamientos de luz monocromática roja, azul y ambos antes y después del período de oscuridad (APO o DPO) en *Beta vulgaris* L var. *cicla* (Figura 6), con el propósito de determinar si su acción por separado o en combinación puede estimular el rendimiento de este cultivo.

- **Efectos de luces LEDs en la anatomía foliar:**

Heo *et al.* 2002, trabajo con *Tagetes erecta* L. (Asteraceae) y *Salvia splendens* Sellow ex Schult (Lamiaceae), irradiándolas durante 16 horas con una DFF de $90 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ utilizando luz LED roja, azul, rojo lejano y combinaciones de éstas con luz LED blanca, y hallaron un mayor número de estomas en rojo lejano + blanco en *T. erecta*, y en *S. splendens* un incremento en los valores de peso seco en el grupo que recibió el tratamiento rojo + blanco.

Li *et al.* (2010), irradiaron con $50 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ durante 12 horas plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L., Malvaceae), y hallaron que los mayores valores de contenido de clorofila, espesor de la lámina foliar, altura del parénquima en empalizada, densidad estomática y área foliar correspondió a las plantas irradiadas por luz azul; sin embargo, los

mayores valores de biomasa fresco y seco correspondieron a las plantas del tratamiento con luz roja y azul.

La aparente esencialidad de la luz azul para el crecimiento de plantas ha sido expuesta en otros trabajos, es así en plantas de tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) las cuales fueron expuestas durante 12 horas a $320 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, encontrándose bajo los tratamientos LEDs de luces azul y azul + rojo, mayor densidad estomática, parénquima en empalizada, parénquima esponjoso aunado a cloroplastos bien desarrollados y tasas fotosintéticas más altas en comparación con las plantas expuestas al tratamiento de luz roja (Ying *et al.*, 2011). Resultados similares fueron reportados por Zhen *et al.*, (2017), en un estudio realizado en *Cordyline australis* Forst. F. (Asparagaceae), *Ficus benjamina* L. (Moraceae) y *Sinningia speciosa* G. Lodd. (Gesneriaceae), en el que compararon la anatomía foliar y eficiencia fotosintética de estas tres especies siendo expuestas durante 16 horas a $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, encontrando un aumento del grosor foliar de *F. benjamina* y un mayor grosor del parénquima en empalizada en *S. speciosa* al ser expuestas a luz azul, así como también un mejor rendimiento cuántico. Resultados similares fueron reportados por Li *et al.* (2020), en plantas de ají (*Capsicum annuum* L., Solanaceae) irradiadas con luz LED azul a una DFF de $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ durante 12 horas, presentando un incremento en la biomasa, en el espesor de la lámina foliar y en la asimilación de CO_2 respecto al grupo control. Por otro lado, un estudio realizado por Chen *et al.* (2020) en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L., Solanaceae) utilizando una DFF de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ reveló que la irradiación con luces led rojo durante 16 horas indujo un mayor desarrollo de las células epidérmicas adaxiales y una mayor diferenciación del parénquima en empalizada y esponjoso respecto a las plantas de los tratamientos que recibieron irradiación de luz azul y

mixto. Sin embargo, la irradiación con luz azul monocromática o en combinación con rojo, incrementaron significativamente el grosor de la lámina foliar hoja, parénquima en empalizada y parénquima esponjoso, así como un mayor desarrollo de los cloroplastos, pudiendo ser razón para la generación de un mayor peso fresco y seco en esos tratamientos.

Tabla 1. Principales fotorreceptores de luz azul y roja, con las respuestas generadas en plantas y sus mecanismos de acción.

Espectro de absorción	Nombre del fotorreceptor	Respuesta generada en la planta	Mecanismo de acción	Estudio
Luz azul	Fototropina	Fototropismo del hipocótilo	<ul style="list-style-type: none"> - Phot1 interactúa con NPH3 regulando la redistribución de auxinas a través de la proteólisis - Median la acción de las expansinas, debilitando la pared celular lo que genera expansión celular 	<ul style="list-style-type: none"> -Sullivan <i>et al.</i>, (2016) -Chen <i>et al.</i>, (2013)
		Fototropismo de raíz	RPT2 está asociada al complejo Phot1-NPH3, dirige los eventos de señalización fototrópica modulando el estado fosforilado de NPH3.	Morrow <i>et al.</i> , (2018); Sullivan <i>et al.</i> , (2016)
		Apertura estomática	<ul style="list-style-type: none"> - Activación de la H^+-ATPasa de la membrana de las células oclusivas, hiperpolarizando la célula, lo que permite la entrada de K^+ y Cl^- a la vacuola, disminuyendo el potencial hídrico y permitiendo entrada de agua y aumento en el turgor. -Degradación del almidón en malato⁻², el cual se transporte a la vacuola disminuyendo el potencial hídrico y causando aumento en la turgencia como respuesta. 	Inoue y Kinoshita, (2017)

		Fotorrelocación de cloroplastos	Reorganizaciones de filamentos de cp-actina, dependientes de la inserción de G-actina por CHUP1.	Kong <i>et al.</i> , (2016)
Criptocromos	Floración		- Interacción de cry2 con CIB1,2,4 y 5 lo que promueve su unión a promotores de genes involucrados en la floración (FT), activando su transcripción. - Interacción de cry1 con SPA1, inhibiendo la interacción SPA1-COP1, lo que genera la acumulación de HY5 y CONSTANS (CO).	-Huche-Thelier <i>et al.</i> , (2015) -Galvao y Fankhauser (2016)
			Cry2 inhibe la unión de CIB1 al promotor de genes que regular la senescencia foliar.	Galvao y Fankhauser, (2016)
	Inhibición de la elongación del hipocótilo		Cry1 interactúa con AUX/IAAs, inhibiendo la interacción del receptor TIR1 con AUX,IAAs.	Xu <i>et al.</i> , (2018)
ZTL/FKF1/L KP2	Regulación del reloj circadiano		- Interacción de ZTL con PRR5 y TOC1 permite la degradación proteosomal de los mismos en el citoplasma. - Interacción de ZTL con GI, modula la degradación de TOC1	-Inoue <i>et al.</i> , (2017) -Inoue <i>et al.</i> , (2017)
			Estabilización en la concentración de CO, facilitando la transcripción FT.	Paik y Huq, (2019)
Luz roja	Fitocromo	Germinación de semillas	Degradoación de PIL5 causa regulación negativa de SOMNUS, y transcripción de JMJ20 y JMJ22 aumentando síntesis de desmetilasas, que actúan en GA3ox1 / GA3ox2 promoviendo síntesis de GA.	Pham <i>et al.</i> (2018)

	Síndrome de evasión a la sombra	Con bajo radio R:FR, phyB es desactivado, estabilizando PIF 3,4,5 y 7 por desfosforilación, permitiendo su unión a TAA1 y YUCCA y genes que responden a auxinas, aumentando IAA libre.	Inoue <i>et al.</i> , (2016)
	Floración	Con bajo radio R:FR, phyB es desactivado, generando acumulación de CO ₂ y aumento en la expresión de FT.	Inoue <i>et al.</i> , (2016)

HIPÓTESIS

Las plantas expuestas a luz azul luego del periodo de oscuridad presentarán un incremento en la actividad fotosintética, inducido por la apertura estomática temprana, mayor densidad estomática y desarrollo del parénquima en empalizada, que se reflejarán en una mayor biomasa, área foliar específica (AFE), espesor de la lámina foliar y desarrollo del clorénquima, en comparación con las plantas irradiadas con luz azul antes del periodo de oscuridad, con luz roja monocromática roja (antes o después del periodo de oscuridad) y en combinación con luz roja (antes o después del período de oscuridad).

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la exposición a luces LEDs azul, rojo y azul + rojo, antes y después del periodo de oscuridad sobre la morfoanatomía foliar y biomasa de plantas de *Beta vulgaris* var. *cicla* durante un período de 28 días

Objetivos específicos:

- Evaluar diferencias en términos de biomasas radicular y del vástago entre los tratamientos irradiados con lámparas azul y roja monocromática por separado y de manera consecutiva, a través de la determinación del peso fresco y peso seco total y particionado.
- Comparar la estructura anatómica foliar entre los tratamientos y cuantificar: área foliar específica (AFE), altura y ancho de células epidérmicas adaxiales y abaxiales, altura y ancho de células del clorénquima, proporción del parénquima en empalizada/esponjoso, densidad estomática, tamaño del estoma y del poro estomático.

METODOLOGÍA

www.bdigital.ula.ve

1. Material biológico

Beta vulgaris L. var *cicla* (comúnmente es llamada acelga) (Figura 7), pertenece a la familia de las Amaranthaceae, la cual comprende cerca de 1000 especies (Troels, 2016). Se caracteriza por presentar un sistema radicular muy ramificado (Ube, 2014) y fibroso, formado por numerosas raíces adventicias (Acosta-Proaño, 2015), hojas anchas, largas (Ube, 2014) ovaladas hasta elípticas, márgenes ondulados, y con láminas foliares de coloración verde claro hasta oscuro o con tonalidades rojizas y un peciolo muy desarrollado, carnoso de color crema o blanco (Acosta-Proaño, 2015).



Figura 7. Cultivares de *Beta vulgaris L. var. cicla* (comúnmente conocida como acelga) utilizados en el presente estudio, transcurridos 10 semanas de su siembra en bolsas conteniendo 250 gr de sustrato.

Esta especie es originaria de las regiones costeras de Europa, a partir de la especie *Beta marítima L.*, de la cual se derivaron por un lado la acelga y por el otro la remolacha. Los primeros reportes del cultivo de esta hortaliza proceden del Mediterráneo y en las Islas Canarias (Acosta, 2015). La acelga crece en un amplio rango de temperaturas, con una temperatura mínima de 6 °C, máxima de 33 °C, un intervalo de temperaturas óptimas de crecimiento de 15-25 °C y una temperatura de germinación entre 18-22 °C (Ube, 2014). Según agricultores de los Andes venezolanos la acelga se puede cultivar entre los 1.200 y 2.700 m.s.n.m.; siempre y cuando el sitio de cultivo posea suelos profundos, bien drenados, ricos en materia orgánica y con un contenido de humedad adecuado (Soria, 2015).

La acelga goza de numerosas propiedades medicinales, entre ellas como emoliente, diurético, diaforética, antiinflamatoria para afecciones de la vejiga y para remediar el

estreñimiento, dado su alto contenido en fibras (Alsina, 1980). El ciclo de vida de este cultivar es de entre 60 y 80 días, por lo que se pueden producir varias cosechas al año en zonas tropicales (Acosta, 2015), hecho que se tomó en consideración en su selección para el presente estudio, así como su potencial alimenticio, aportado por su follaje y pecíolos. En el presente ensayo se utilizaron las hojas como objeto de estudio, dado su rápido desarrollo, aunado a su alto contenido nutritivo, el cual varía según la variedad. En la Tabla 2 se indica el valor nutricional de la variedad de cultivar de acelga comúnmente cultivada.

Tabla 2. Valor nutricional de una variedad común de acelga. Tomado de: Ube (2014).

Valor nutricional de la acelga (100 g)	
Agua	87.06
Proteínas	1.68
Grasas	0.18
Carbohidratos	9.96
Fibra	0.8
Cenizas	1.12
Otros componentes (mg)	
Calcio	16
Fósforo	38
Hierro	0.79
Vitamina A	35.00 UI
Tiamina	0.027
Riboflavina	0.04
Niacina	0.331
Ácido ascórbico (Vitamina C)	3.6
Calorías	44 kcal.

2. Siembra y trasplante de semillas de *Beta vulgaris* L. var *cicla*:

Se sembraron 200 semillas de *Beta vulgaris* L. var *cicla*, cultivar penca blanca, lote 315002E000.7, con un estado de pureza del 99% y de germinación del 85%.

Las semillas de acelga se sembraron en bandejas de poliestireno, a las cuales se les abrieron orificios en el fondo para facilitar el drenaje añadiéndoseles 400 gr de sustrato previamente esterilizado por autoclave. Para montar el presente ensayo se utilizó un sustrato con una alta proporción de materia orgánica, colectado en un bosque secundario, ubicado a 1900 m snm, donde no se han establecido cultivos previamente. Las semillas fueron sembradas en el sustrato a 5 cm de profundidad del sustrato, lo que es sugerido por campesinos que cosechan acelga en la zona de Tabay. Las bandejas de poliestireno con el sustrato y semillas fueron proporcionadas con agua diariamente hasta el punto en donde dicho sustrato se observaba humedecido en su totalidad.

El trasplante se realizó cuando las plántulas presentaron una altura promedio de 5 cm; éstas se colocaron en bolsas plásticas estériles. Cada bolsa plástica contó con 250 gr de sustrato estéril y una planta, a la cual se le aplicó una dosis de fertilizante SOLUTEC 15 días después del trasplante, siguiendo las recomendaciones del fabricante y las de agricultores locales, quienes sugieren una dosis de 1 cucharadita (5 cm^3) por litro de agua de riego.

La esterilización del sustrato se realizó en una autoclave modelo “Tuttnauer 254ML Autoclave-Steam sterilizer”; en total se realizarán 3 ciclos de esterilización, en cada ciclo se utilizó una temperatura de 121°C y una presión de 259 bar durante 20 minutos.

Para mantener la humedad y la emergencia homogénea de las plántulas, se aplicaron riegos diarios con agua proveniente de la mina ubicada en el sector Los Chorros, barrio 5 de Julio, por tratarse de un cultivar que requiere una humedad constante en el suelo (Aduviri, 2016); utilizando alrededor de 750 ml de aguadaria para cada plántula.

El sitio donde se realizó el ensayo mantiene una temperatura promedio anual de 26 °C y una humedad relativa del 60%. La luz recibida durante el día fue natural con un fotoperíodo de oscuridad de 12 horas.

3. Tratamientos con LEDs azul, rojo y azul + rojo en *Beta vulgaris* L. var *cicla*

Transcurridos 2 meses después de la germinación, las plantas se irradiaron con distintos tratamientos con LEDs, con un fotoperíodo de 12 horas de oscuridad y 11 horas y 30 minutos de luz natural y 30 minutos de luz artificial con luces LEDs, durante 28 días; en un ambiente con una temperatura promedio de 26 °C. Las plantas se rotaron diariamente durante el experimento, de manera minimizar las diferencias de sitio sobre las plantas y obtener un grupo homogéneo.

En el estudio se implementaron siete tratamientos con bombillos LEDs, que estuvieron dispuestos en una lámpara equipada con bombillos LED monocromáticos azul y rojo, ensamblada en el laboratorio de electrónica de CITEC-ULA (Fig. 8). El período de exposición a los diferentes tratamientos fueron 30 minutos, a una DFFF de 42-47 y 60-62 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para luz azul y roja, respectivamente, lo cual fue medido con el uso del analizador infrarrojo de gases, modelo ADC LCi. Los tratamientos con luces LEDs se distribuyeron de la siguiente manera:

- Tres tratamientos de irradiación previos al período de oscuridad (APO), entre las 06:00 – 8:30 pm, período en el cual se sometieron las plantas a luz azul monocromática, luz roja monocromática y luz azul + roja, a razón de 10 plantas/tratamiento, durante un período de 30 minutos por tratamiento.

- Tres tratamientos posteriores al período de oscuridad (DPO), entre las 5:00 – 6:30 am, período en el cual se sometieron las plantas a luz azul, luz roja, o luz azul + roja, a razón de 10 plantas/tratamiento, durante un período de 30 minutos.

- Tratamiento del grupo control. Este grupo estuvo conformado por 10 plantas, las cuales no se les expuso a ningún tipo de luz artificial suplementaria.

Cabe mencionar que los tratamientos mencionados como luz azul + roja llevados a cabo antes y después del período de oscuridad, consistieron en la irradiación con luz azul durante 15 minutos seguido de la irradiación con luz roja durante 15 minutos.



Figura 8. Lámpara construida en el laboratorio de electrónica de CITEC ULA, el bombillo LEDs azul se ubica a la derecha y el rojo a la izquierda, respectivamente.

En la Figura 9 se representan todos los tratamientos realizados en el presente estudio. La longitud de onda emitida por los LEDs azul y rojo corresponden a longitudes de 450nm y 660nm, respectivamente. Para cada tratamiento se utilizó un $n = 10$ plantas, las cuales recibieron los tratamientos durante un período de 28 días. Con el propósito de evitar contaminación lumínica entre los tratamientos, se dispuso

de un espacio el cual se equipó para que permaneciera en total oscuridad, en donde solo las plantas que iban a someterse al tratamiento lumínico ingresaban al mismo. La distancia del ápice de las plantas al bombillo de la lámpara LED fue de 72cm, con la finalidad de que la exposición a la radiación fuese uniforme, con una irradiación constante de $42-47\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (led azul) y $60-62\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (led rojo).

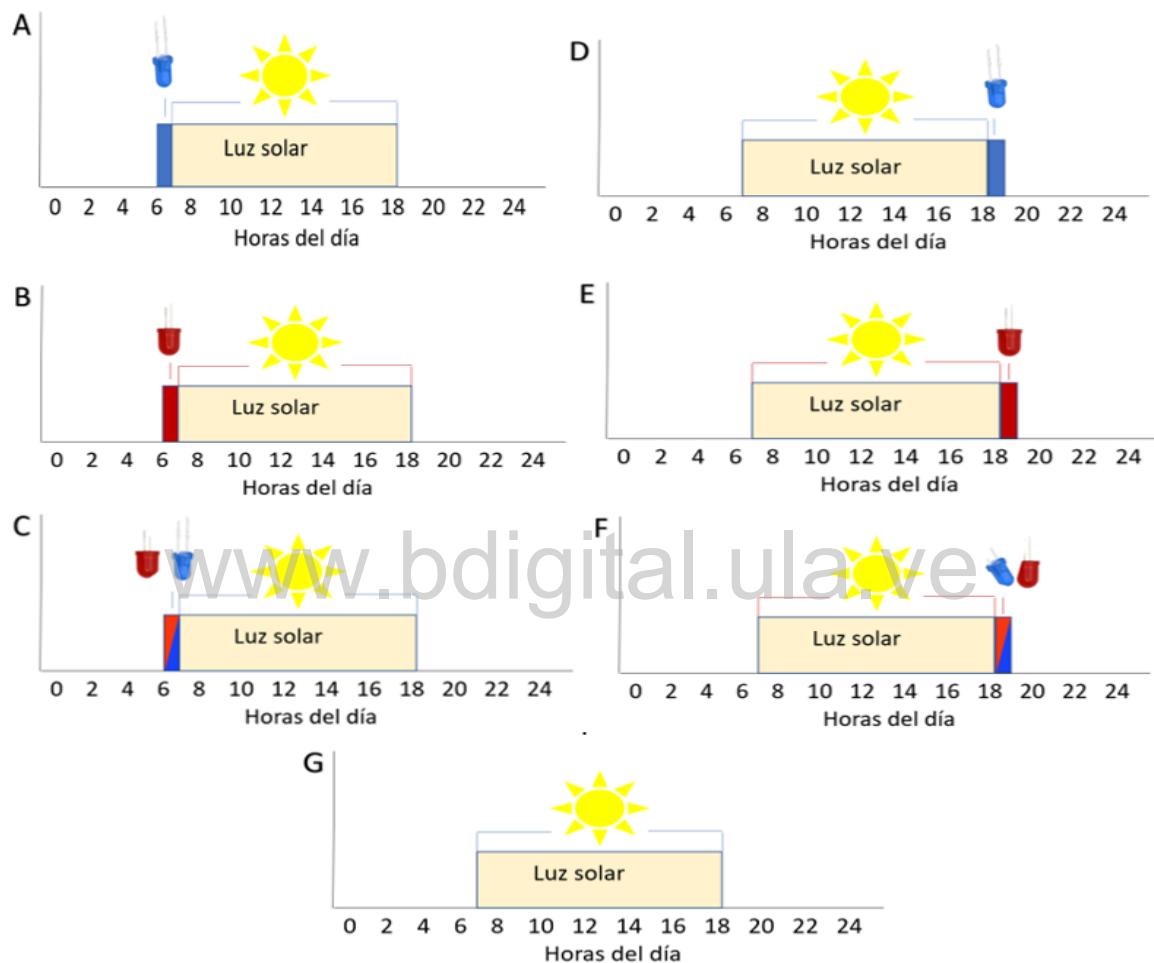


Figura 9. Tratamientos con bombillos LEDs azul, rojo y azul + rojo y el control que se aplicaron a plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla*. A, B, C corresponden a los tratamientos con LEDs azul, rojo y azul + rojo después del periodo de oscuridad (DPO). D, E, F corresponden a los tratamientos con LEDs azul, rojo y azul + rojo antes del periodo de oscuridad (APO). G corresponde al control.

4. Peso fresco y peso seco total y particionado, área foliar específica (AFE).

Las 10 plantas de cada tratamiento se utilizaron para las mediciones de biomasa, específicamente peso de la masa foliar, raíz y AFE, transcurridos 28 días de los tratamientos con bombillos LEDs. En cada tratamiento, se seleccionó una hoja por planta (10 en total), abarcando la lámina y el pecíolo. De estas 10 plantas, se tomaron 4 para realizar las mediciones de AFE y las 6 plantas restantes se utilizaron para los estudios anatómicos.

Cada planta fue sumergida en un compartimento con suficiente agua a modo de ablandar el sustrato y así proceder remover la mayor cantidad posible. Una vez limpiada las raíces, se procedió a pesarlas para determinar el peso fresco, utilizando una balanza digital marca iSonic modelo LAMPT86500.

Para obtener el peso fresco particionado las plantas, se dividieron en secciones las hojas, pecíolos y raíces con unas tijeras de podar, y se pesaron nuevamente con la misma balanza digital. Al culminar el pesado cada órgano, se procedió a meterlas en bolsas de papel previamente etiquetadas y pesadas y se colocaron en una estufa eléctrica Marca Memmert del Laboratorio de Anatomía Vegetal, del Instituto Jardín Botánico de Mérida, a una temperatura constante de 70°C, durante 72 horas, con el objeto de obtener el peso el peso seco total y particionado (Chinchilla *et. al.*, 2018).

4.1. Determinación del área foliar específica (AFE)

Se utilizaron cuatro hojas con su pecíolo por tratamiento para medir AFE, estas hojas junto con el pecíolo tras ser extraídas de la planta en cuestión se preservaron en bolsas plásticas previamente etiquetadas donde se mantuvieron en condiciones de humedad con la ayuda de

papel periódico humedecido con agua. Las hojas húmedas se prensaron en pliegos de papel periódico, dispuestos entre cartones y se procedió a secarlos, cambiando regularmente el periódico, hasta lograr que se secan completamente, al cabo de 20 días.

Con las hojas secas se determinó el peso seco utilizando la balanza digital. El área foliar se determinó utilizando un escáner “Microtek Slimscan c3” del laboratorio de Sistemática Vegetal del Instituto Jardín Botánico de Mérida, Facultad de Ciencias. El área foliar se determinó utilizando el software procesador de imágenes Image J versión 1.48 (Callejas *et al.*, 2013). El valor del área foliar específica (AFE) se determinó dividiendo el área foliar determinada en cm^2 de cada hoja entre el peso seco de la hoja (gr); es decir:

$$\text{AFE} = \text{Área foliar (cm}^2\text{)}/\text{peso seco foliar (gr)}.$$

5. Estudio anatómico foliar comparado en las plantas de *Beta vulgaris* L. var *cicla*

Para el estudio anatómico se utilizaron un total de seis hojas ($n=6$) por tratamiento, escogidas de manera aleatoria, tomando siempre hojas vigorosas de diferentes individuos.

Dichas hojas se utilizaron para los cortes transversales y los estudios epidérmicos.

Los estudios anatómicos se realizaron en la región media de la lámina foliar y solo se consideraron hojas plenamente expandidas, maduras y vigorosas. El estudio anatómico se realizó al transcurrir los 28 días de exposición a los tratamientos con lámparas LEDs. Las hojas seleccionadas para estudios anatómicos se fijaron previamente en FAA (90 ml de Etanol al [70%]/5ml de Formaldehido [40%]/5ml de Ácido Acético Glacial). Al cabo de 48 horas, el material fijado se retiró de la solución preservante, se lavó repetidas veces y se dejó en remojo durante 24 horas haciendo varios cambios de agua para eliminar completamente la solución fijadora de FAA.

Las secciones transversales se realizaron a mano alzada en la región media de la lámina, con una hojilla de barbero, bajo una lupa estereoscopia marca Leica. Todas las secciones transversales obtenidas se blanquearon utilizando una solución de cloro comercial diluido al 5%, seguido de un paso rápido por ácido acético (aproximadamente 30 segundos), varios enjuagues con agua de grifo, y se procedió a realizar la doble tinción, utilizando azul de alcián y safranina en proporciones 7:3 (Modificado por Luque *et al.*, 1996). Posteriormente, los cortes se lavaron varias veces en agua de grifo, se colocaron en alcohol al 50 % para eliminar el aire en los tejidos y se montaron sobre los portaobjetos, utilizando un medio de glicerina acuosa al 50%. Todas las preparaciones se observaron en un microscopio óptico marca Leica, y se tomaron fotografías de las preparaciones de mayor calidad utilizando una cámara marca Ken-A-Vision modelo PupilCam, adosada al ocular del microscopio óptico para la toma de microfotografías.

www.bdigital.ula.ve

Para determinar la densidad estomática y dimensiones de los estomas en las hojas expuestas a los diferentes tratamientos, se les aplicó una capa de barniz de uñas transparente sobre la superficie adaxial y abaxial de cada hoja, ya que a pesar de que es una planta dicotiledónea y esto sugiere que es hipoestomática, no se encontraron estudios previos relacionados con la anatomía foliar de esta especie, por lo que era imprescindible estudiar ambas epidermis y determinar el tipo y posición de los estomas. Cuando el esmalte se secó, se colocó encima una cinta adhesiva transparente la cual se despegó arrastrando la capa del esmalte. La cinta adhesiva con la impresión foliar se colocó en un portaobjetos y se observó bajo la lupa marca Leica y el microscopio óptico Leica (Bermúdez, 2013).

Las microfotografías para los cortes transversales fueron tomadas con el objetivo ocular de 10x mientras que para medidas de densidad estomática y caracteres estomáticos medidos se utilizó el objetivo ocular de 10x y 40x, respectivamente.

Con las imágenes de las microfotografías, se determinó la altura y el ancho de las células epidérmicas adaxiales y abaxiales, altura y ancho de células del clorénquima, proporción del parénquima en empalizado, esponjoso y empalizado/esponjoso, densidad estomática, dimensiones de los estomas y del poro estomático, utilizando el programa Image J versión 1.48. A dicho programa se le incorporó una escala en μm , para determinar el promedio de $n=30$ mediciones sobre la distancia conocida en μm de dos puntos, esto para que el programa tomase de referencia dicha escala para todas las mediciones realizadas.

Se realizaron entre 8-10 secciones por hoja, de los cuales se seleccionaron los mejores 6 cortes y se realizaron 5 microfotografías por corte, obteniendo un total de 30 micrografías por tratamiento. En el caso de los caracteres anatómicos estudiados en las secciones transversales, se realizaron 100 mediciones por carácter, para lo cual se consideraron 3 a 4 mediciones por carácter, por cada microfotografía tomada. Para el cálculo de densidad estomática, se realizaron 12 impresiones epidérmicas por tratamiento, mientras que para las mediciones de altura y ancho de estoma y poro estomático, se tomaron 30 mediciones en total por lámina, a partir de diferentes campos.

6. Análisis estadísticos realizados

Todos los análisis estadísticos llevados a cabo en este trabajo se realizaron utilizando el programa IBM SPSS Statistics. Para determinar si los diferentes tratamientos de luz artificial suplementaria generaron impactos significativos en las diferentes variables de

biomasa (peso fresco y seco total y particionado) y anatómicas, se realizaron tests de ANOVA para aquellas variables en donde los datos se distribuyeron de manera normal y para ver diferencias entre los tratamientos una prueba de Tukey, mientras que en los que no tuvieron dicha distribución normal fue realizado el test no paramétrico Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Para la determinación del efecto de los tratamientos de luces LEDs azul, rojo, azul y rojo sobre la densidad estomática se realizó un Anova de una vía y una prueba Tukey para determinar la diferencia entre grupos con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

1. Influencia de la irradiación con lámparas led azul y rojo sobre la biomasa y área foliar específica (AFE):

Las plantas de *Beta vulgaris* L. var. *cicla* irradiadas con luz azul antes del período de oscuridad (AB) presentaron el mayor peso fresco total de todos los tratamientos, seguido aquellos irradiados con lámparas led azul/rojo, rojo, azul después del período de oscuridad (AM, AR, DR y DB, respectivamente) y del tratamiento control (Figura 10.a). Estos resultados demuestran diferencias significativas en el peso fresco total entre los tratamientos azul antes del período de oscuridad (AB) y el tratamiento azul/rojo después del período de oscuridad (DM). Asimismo, el mayor peso seco total correspondió al tratamiento AB, seguido de los tratamientos AM y AR (Figura 10 a).

Cuando se analizan las diferencias de peso fresco y peso seco particionado, es evidente que el mayor aporte al peso fresco total lo hacen las hojas y raíces, puesto que no se observaron diferencias significativas en el peso de los pecíolos en ninguno de los tratamientos (Figura 10 c). Las plantas irradiadas con luz azul antes del período de oscuridad (AB) y luz roja

después del período de oscuridad (DR) presentaron valores de peso fresco de hojas significativamente superiores a los obtenidos en el tratamiento con luz azul/roja después del período de oscuridad DM (Figura 10 b).

Una tendencia similar se observó al comparar los valores de peso fresco y seco de las raíces, con la diferencia de que los valores de las plantas sometidas al tratamiento AB eran significativamente superiores a las de todos los otros tratamientos (Figura 10 c). En contraste, cuando se comparan los valores del peso seco de hojas, y área foliar específica no se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 10 b, 11). Cabe mencionar que las plantas correspondientes al grupo control mostraron menor rendimiento en biomasa; reflejado en los bajos valores de peso fresco de hoja y raíz (Figura 10 a y d), así también en peso seco total y de raíz (Figura 10 a y d).

www.bdigital.ula.ve

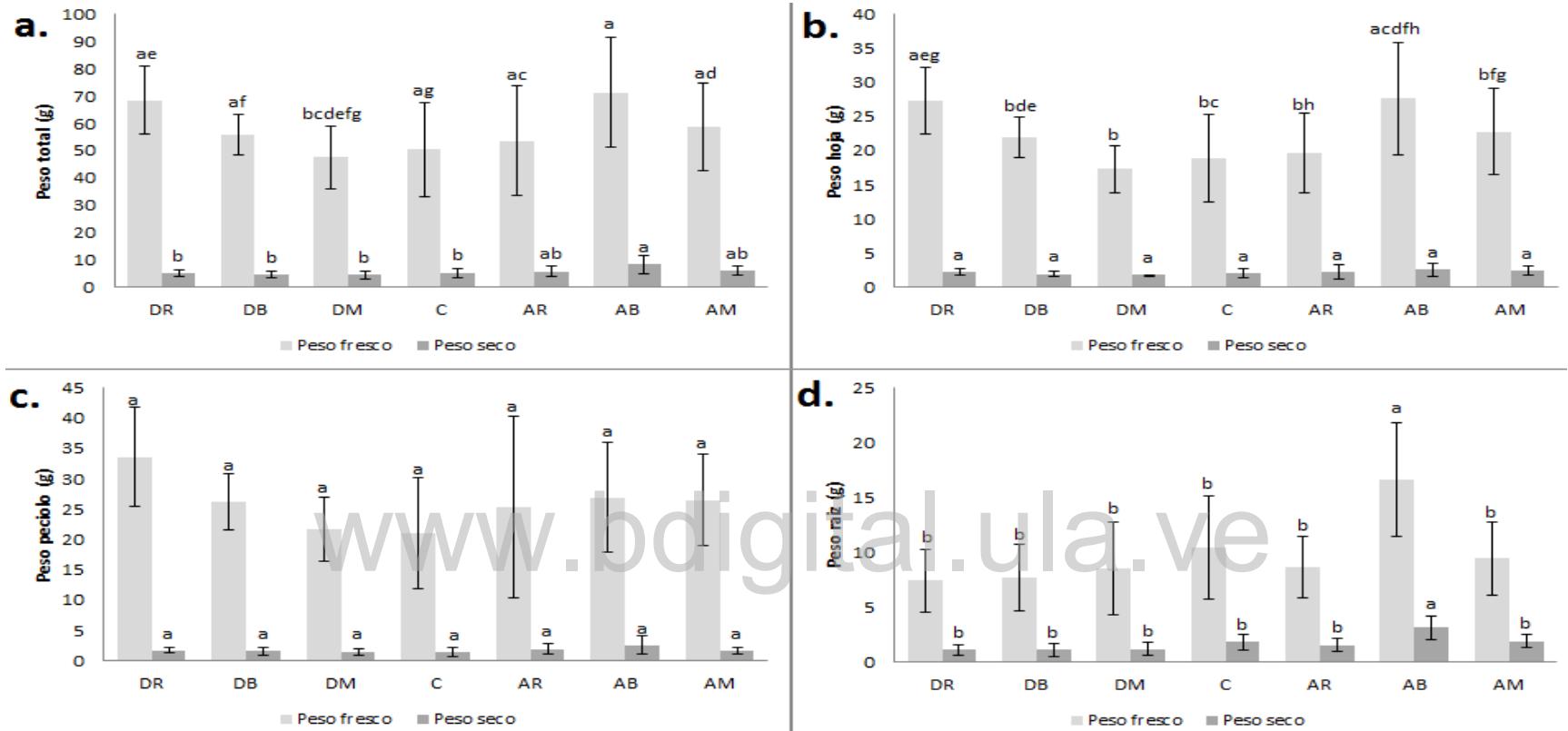


Figura 10. Pesos frescos y secos totales y particionados obtenidos en plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. **a:** Valores de peso fresco y seco totales; **b, c, d:** peso fresco y peso seco particionado. Letras iguales en columnas indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. **AB:** azul antes del periodo de oscuridad; **AM:** azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR:** rojo antes del periodo de oscuridad; **C:** control; **DB:** azul después del periodo de oscuridad; **DM:** azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR:** rojo después del periodo de oscuridad. *Prueba de Levene $< 0,05$ para peso seco de hoja.

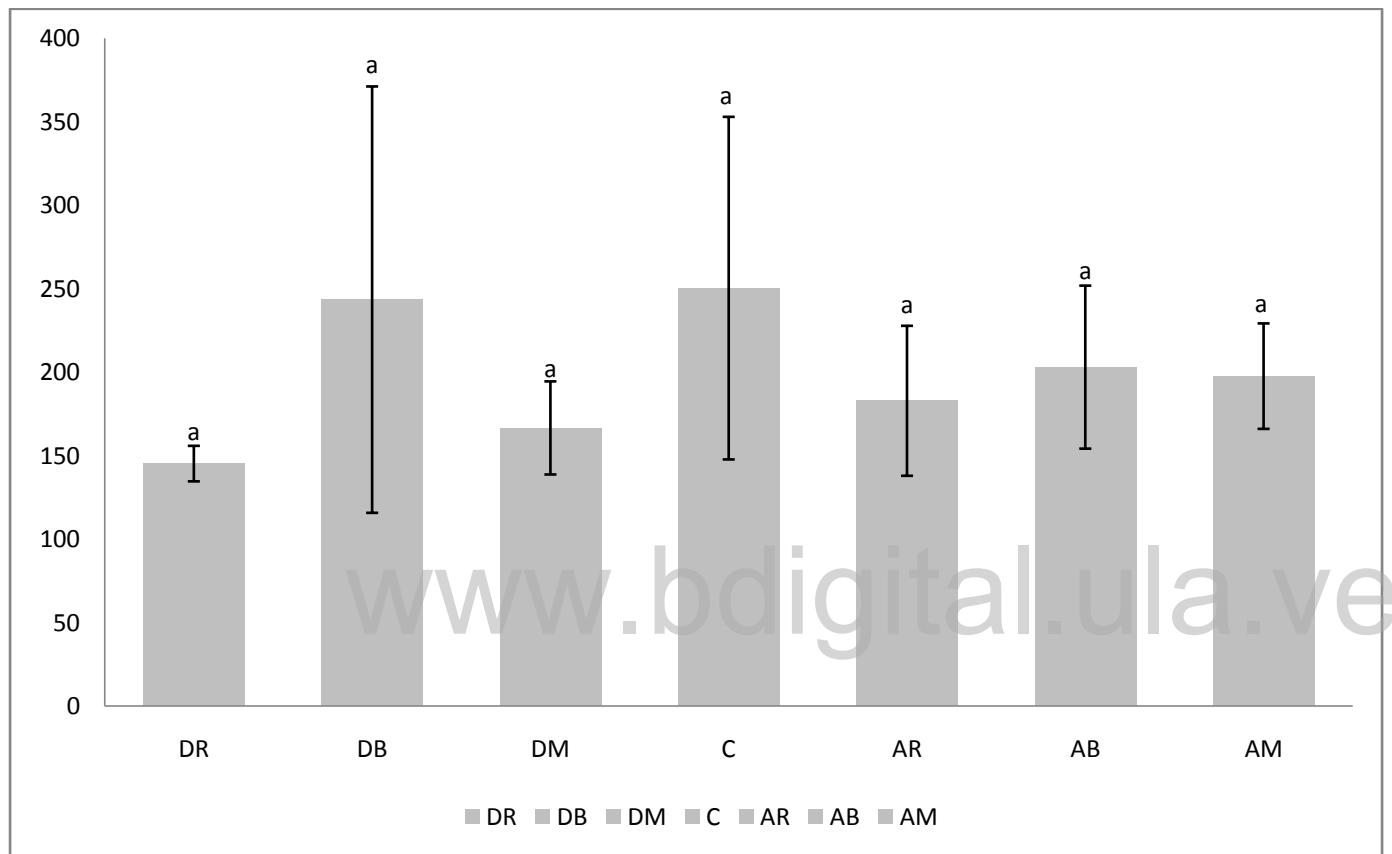


Figura 11. Área foliar específica (AFE) determinada en plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. **AB:** azul antes del periodo de oscuridad; **AM:** azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR:** rojo antes del periodo de oscuridad; **C:** control; **DB:** azul después del periodo de oscuridad; **DM:** azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR:** rojo después del periodo de oscuridad.*Prueba de Levene $< 0,05$

2. Influencia de la irradiación con lámparas led azul y rojo sobre sobre la anatomía foliar

Beta vulgaris L var. *cicla* presenta hojas anfiestomáticas, con estomas a nivel epidérmico, cutícula delgada en ambas caras, epidermis adaxial y abaxial uniestratificadas, compuestas de células rectangulares de paredes delgadas (Figura 12). Los tratamientos control (C), luz azul antes del período de oscuridad (AB) y luz azul/roja antes del período de oscuridad (AM) se destacaron por presentar las células epidérmicas de mayor tamaño respecto a los tratamientos DB, DM y DR (Tabla 3). El mesófilo en esta especie es bifacial; conformado por un parénquima en empalizada de 2-3 estratos de células en todos los tratamientos, con un cuarto estrato de células de poco diferenciadas de las células esponjosas, particularmente en las plantas que recibieron el tratamiento AR (Figura 12) y un parénquima esponjoso conformado por 3-4 estratos de células en los tratamientos AM, DM, AR, DR y C, y de 2-3 estratos en los tratamientos AB y DB (Figura 12). Sin embargo; al comparar el tamaño de las células de empalizada y esponjoso de las plantas de los diferentes tratamientos, es evidente que los mayores valores corresponden a las plantas que recibieron luz azul/roja, antes del período de oscuridad (AM), (Tabla 3, Figura 12) y los menores a los tratamientos DR, DB, AR (Tabla 3, Figura 12).

Todos los tratamientos incluyendo el control se caracterizan por presentar un mesófilo relativamente compacto; sin embargo, se observaron variaciones en lo que se refiere al nivel de diferenciación de las células del parénquima de empalizada respecto al esponjoso, en los diferentes tratamientos (Figura 12). Las plantas que recibieron luz azul antes y después del período de oscuridad (AB y DB) y las plantas del tratamiento control se caracterizaron por presentar células de empalizada más cilíndricas, que fácilmente se distinguen de las células del parénquima esponjoso, a diferencia de los tratamientos

restantes (AR, DR y AM) (Figura 12), mientras que las plantas que recibieron la combinación de luz azul y roja antes del período de oscuridad (AM), que presentan células del parénquima en empalizada y esponjoso significativamente más grandes que las observadas en todos los otros tratamientos incluyendo el control, lo cual explica los mayores valores de espesor del mesófilo observado en este grupo (Figura 12, Tabla 3 y 4).

www.bdigital.ula.ve

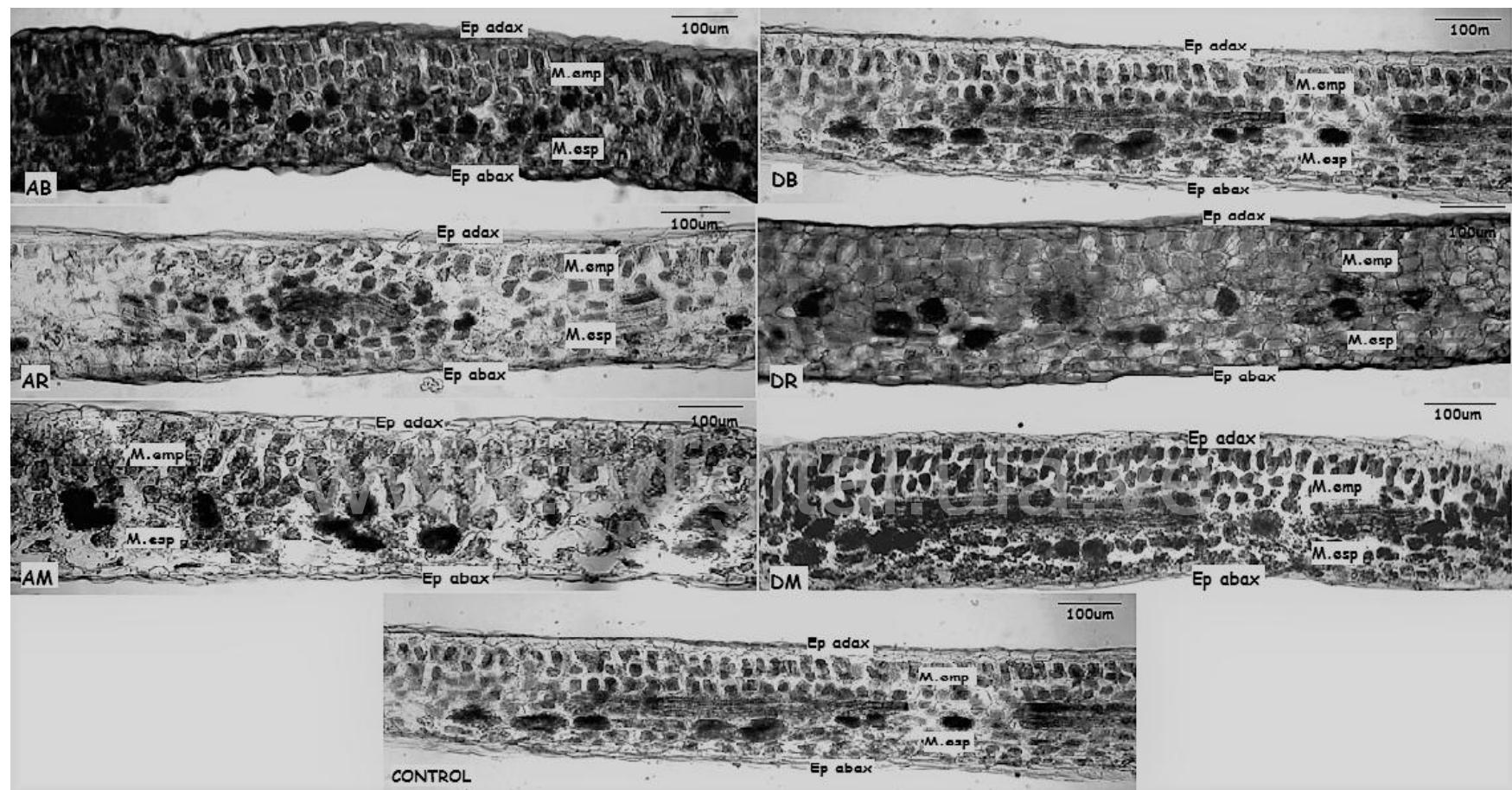


Figura 12. Secciones transversales foliares con aumento óptico de (40x) de plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. Leyenda: **AB**: azul antes del periodo de oscuridad; **AM**: azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR**: rojo antes del periodo de oscuridad; **C**: control; **DB**: azul después del periodo de oscuridad; **DM**: azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR**: rojo después del periodo de oscuridad. **Ep adax**: epidermis adaxial; **Ep abax**: epidermis abaxial; **M. esp**: mesófilo esponjoso; **M.emp**: mesófilo en empalizada.

Tabla 3. Valores promedio y desviación estándar de los caracteres anatómicos estudiados en secciones foliares de plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.

Tratamientos	Células epidérmicas adaxiales (μm)		Células epidérmicas abaxiales (μm)		Células del parénquima en empalizada (μm)		Células del parénquima esponjoso (μm)	
	Alto	Ancho	Alto	Ancho	Alto	Ancho	Alto	Ancho
DR	15,03±2,90 ^c	26,55±7,49 ^b	15,37±3,26 ^c	23,57±7,20 ^c	34,61±6,34 ^c	25,36±6,22 ^d	27,54±5,05 ^b	34,61±8,06 ^b
DB	16,83±3,01 ^b	27,65±7,56 ^b	15,91±2,74 ^{ce}	27,49±7,22 ^{bd}	36,48±7,06 ^c	26,74±4,74 ^{de}	24,68±4,17 ^c	32,32±6,25 ^{be}
DM	17,09±3,75 ^{bd}	29,87±9,64 ^b	13,39±2,76 ^d	24,27±7,11 ^c	42,54±8,11 ^b	25,36±6,62 ^d	29,48±5,90 ^b	29,22±7,33 ^{ce}
C	20,68±3,14 ^a	36,16±11,16 ^a	17,41±2,98 ^{bef}	26,44±6,60 ^{cde}	42,26±10,10 ^b	33,98±7,58 ^b	27,20±5,70 ^b	39,32±8,96 ^{ad}
AR	16,51±3,36 ^{cd}	28,76±10,03 ^b	13,73±3,31 ^d	23,67±8,17 ^c	36,60±8,19 ^c	25,20±6,68 ^d	23,80±5,58 ^c	27,98±7,08 ^c
AB	22,00±4,07 ^a	34,79±9,97 ^a	18,62±3,32 ^{af}	29,52±7,85 ^{be}	41,67±7,90 ^b	28,99±6,05 ^{ce}	29,05±5,51 ^b	33,47±8,26 ^b
AM	21,94±3,55 ^a	38,15±8,77 ^a	19,40±3,21 ^a	34,11±7,79 ^a	53,06±9,89 ^a	39,83±8,15 ^a	36,33±7,62 ^a	43,18±8,30 ^a

Los valores en columnas seguidos de letras iguales indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. Leyenda: **AB**: azul antes del periodo de oscuridad; **AM**: azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR**: rojo antes del periodo de oscuridad; **C**: control; **DB**: azul después del periodo de oscuridad; **DM**: azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR**: rojo después del periodo de oscuridad.*Casillas de color azul y rosa representan los menores y mayores valores obtenidos, respectivamente.

Tabla 4. Valores promedio y desviación estándar de los caracteres anatómicos correspondientes al grosor de hoja en secciones foliares transversales de plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.

Tratamientos	Clorénquima (Altura) (μm)	Parénquima en empalizada (Altura) (μm)	Parénquima esponjoso (Altura) (μm)
DR	206,69±33,83 ^b	84,24±21,64 ^c	122,53±30,29 ^a
DB	177,57±15,33 ^c	108,76±11,91 ^b	71,15±12,87 ^d
DM	212,269±28,82 ^{bd}	105,49±18,50 ^b	95,03±23,82 ^b
C	204,64±33,28 ^b	115,38±25,77 ^b	73,97±12,82 ^{df}
AR	175,16±28,56 ^c	109,18±19,13 ^b	54,64±11,77 ^e
AB	170,73±19,05 ^c	71,95±15,44 ^c	93,48±15,10 ^b
AM	242,45±47,87 ^{ad}	152,30±30,53 ^a	81,606±21,77 ^{cf}

Los valores en columnas seguidos de letras iguales indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. Leyenda: **AB**: azul antes del periodo de oscuridad; **AM**: azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR**: rojo antes del periodo de oscuridad; **C**: control; **DB**: azul después del periodo de oscuridad; **DM**: azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR**: rojo después del periodo de oscuridad.*Casillas de color azul y rosa representan los menores y mayores valores obtenidos, respectivamente.

2.1. Epidermis abaxial y adaxial

En vista paradermal se aprecian dos grupos celulares, las células pavimentosas y las células del complejo estomático. *Beta vulgaris* L var. *cicla* se caracteriza por presentar una elevada densidad estomática en ambas caras en las plantas de todos los tratamientos (Tabla 5, Figura 13, 14 y 15). Las células pavimentosas se caracterizan por presentar paredes con bordes irregulares, ligera hasta marcadamente sinuosas, con menor frecuencia, isodiamétricas en los tratamientos AR, AB y DB. Los estomas son principalmente de tipo anisocíticos y tetracíticos (Figura 13, 14 y 15).

Las plantas de los tratamientos que recibieron la irradiación con luz roja antes del período de oscuridad (DR) presentaron los menores valores de densidad estomática de todos los tratamientos, tanto en la epidermis adaxial como en la abaxial (Tabla 5), esta disminución en la densidad estomática también se observó en el grupo que recibió la irradiación con luz roja antes del período de oscuridad (AR), pero sólo en la epidermis abaxial (Tabla 5).

Además de los valores de densidad estomática, se compararon las dimensiones del estoma y del poro estomático. De acuerdo a nuestros resultados, los estomas de mayor tamaño corresponden a las plantas expuestas a la irradiación con luz azul/roja antes del período de oscuridad (AM) (Tabla 6); mientras que los menores, al grupo que recibió la irradiación con luz roja antes del período de oscuridad (AR), seguido del grupo control (C). En relación al efecto que ejerce la luz azul y/o roja sobre el tamaño del poro del complejo estomático, observamos que todos los tratamientos irradiados con luz roja monocromática se caracterizaron por presentar poros más pequeños, indistintamente de si su exposición a luz roja se produjo antes o después del período de oscuridad (AR y DR) (Tabla 6).

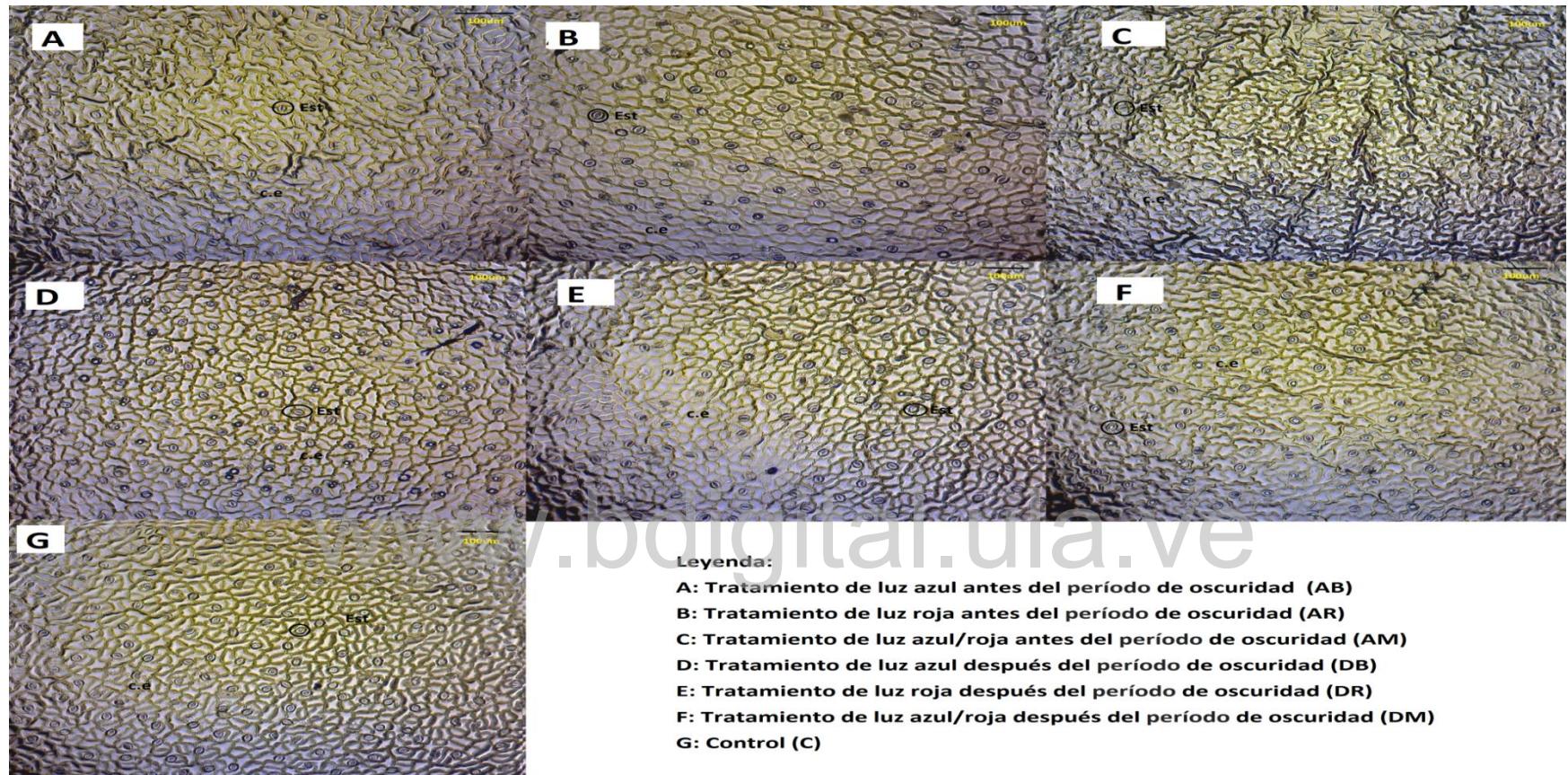


Figura 13. Impresiones epidérmicas adaxiales de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. Leyenda: **Est:** estoma; **c.e:** célula epidérmica.

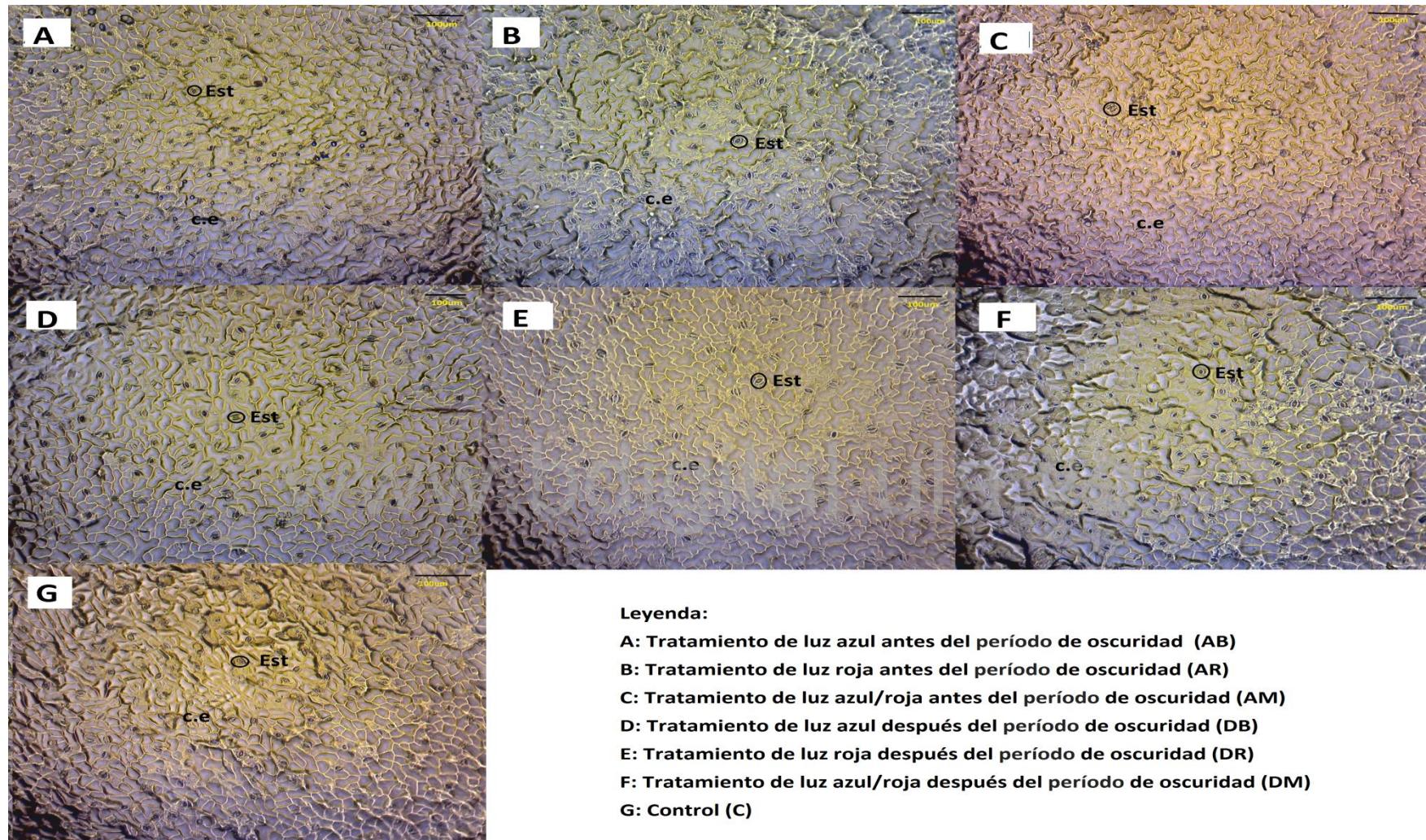


Figura 14. Impresiones epidérmicas abaxiales de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. Leyenda: **Est:** estoma; **c.e:** célula epidérmica pavimentosa.

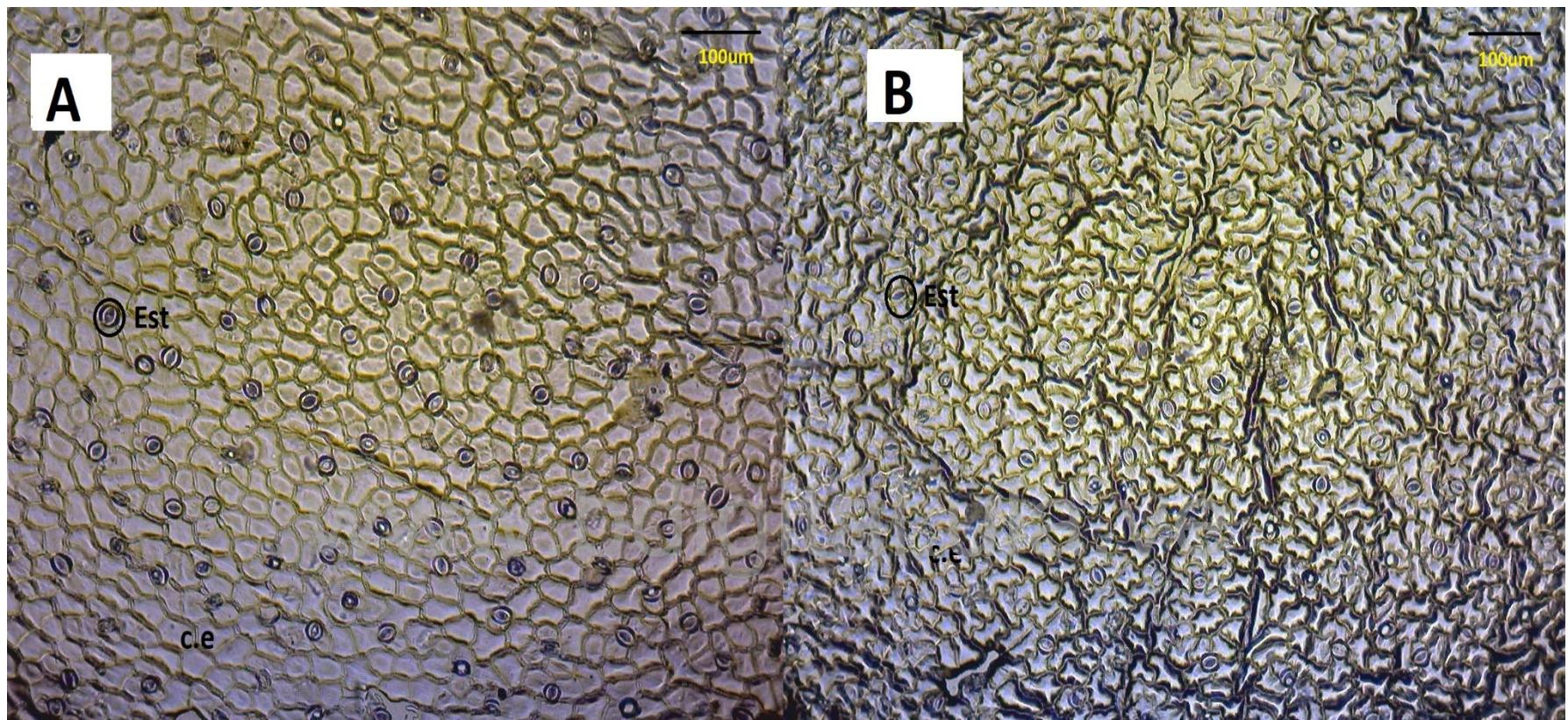


Figura 15. Impresiones epidérmicas adaxiales de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja. **A.** Tratamiento de luz roja antes del período de oscuridad (AR); **B.** Tratamiento de luz roja/azul antes del período de oscuridad (AM). Leyenda: **Est:** estoma; **c.e:** célula epidérmica pavimentosa.

Tabla 5. Valores promedio y desviación estándar de la densidad estomática en la cara adaxial y abaxial de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja.

Tratamientos	Densidad estomática adaxial(estomas/ μm^2)	Densidad estomática abaxial(estomas/ μm^2)
DR	111,64 \pm 33,25 ^b	185,96 \pm 46,41 ^a
DB	168,22 \pm 37,24 ^a	160,43 \pm 52,98 ^a
DM	156,61 \pm 21,08 ^a	167,84 \pm 29,86 ^a
C	159,70 \pm 43,52 ^a	176,09 \pm 47,77 ^a
AR	100,34 \pm 34,15 ^b	120,62 \pm 39,09 ^b
AB	162,22 \pm 32,16 ^a	189,36 \pm 143,24 ^a
AM	175,05 \pm 26,87 ^a	199,91 \pm 26,91 ^a

Los valores en columnas seguidos de letras iguales indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. Leyenda: **AB**: azul antes del periodo de oscuridad; **AM**: azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR**: rojo antes del periodo de oscuridad; **C**: control; **DB**: azul después del periodo de oscuridad; **DM**: azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR**: rojo después del periodo de oscuridad.*Casillas de color gris representan los menores valores obtenidos, respectivamente.

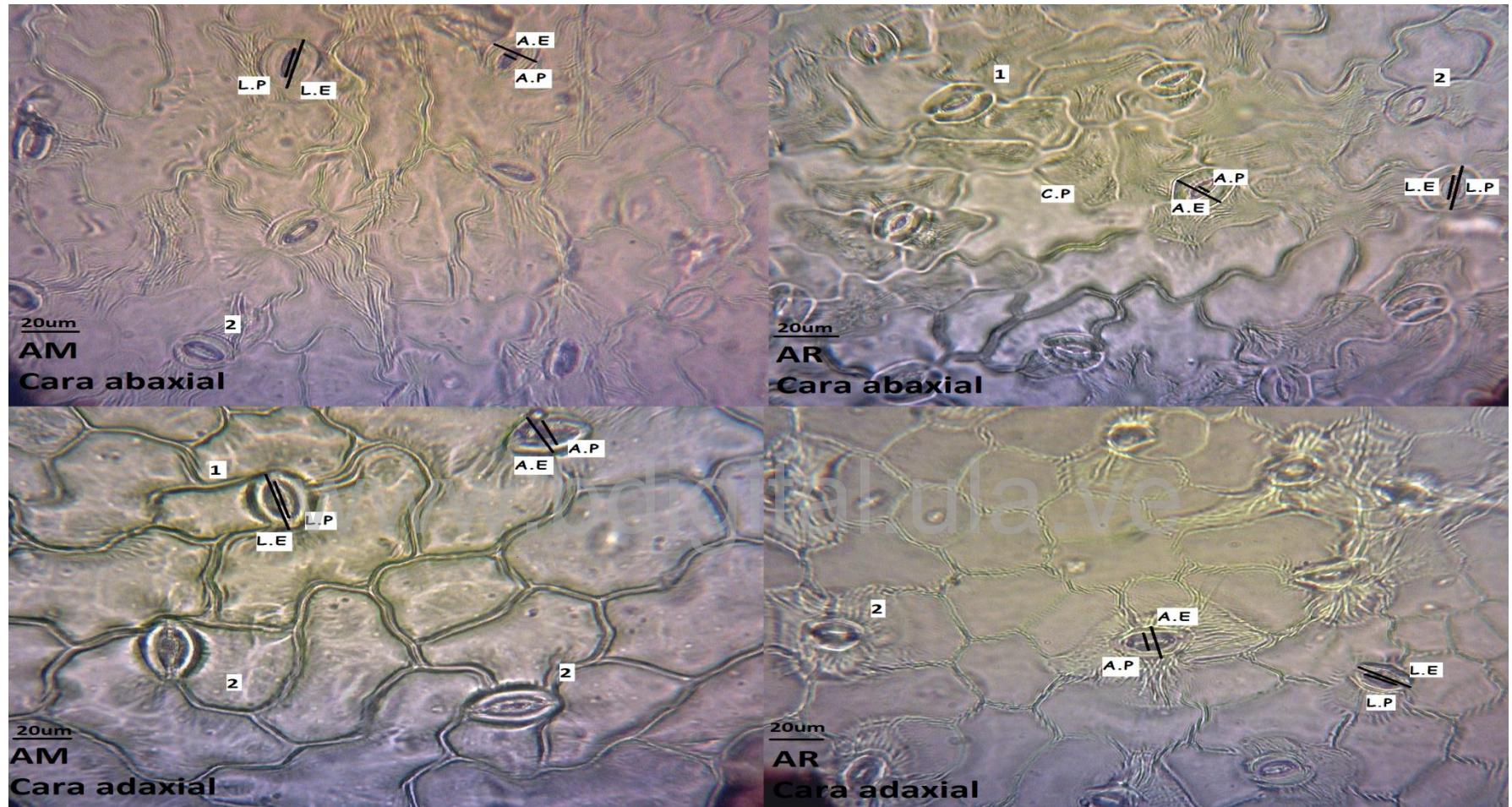


Figura 16. Raspados de epidermis adaxial de hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* observado a (400x) sometidas a tratamientos con lámparas LEDs roja antes (AR y DR). Leyenda: **A.P:** ancho del poro; **A.E:** ancho del estoma, **L.P:** largo del poro; **L.E:** largo del estoma; **1.** estoma anisocítico; **2.** estoma tetracítico.

Tabla 6. Valores promedio y desviación estándar del largo, ancho y tamaño del poro de los estomas en epidermis adaxial y abaxial hojas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* sometidas a tratamientos con lámparas LEDs luz azul, roja y azul/roja

Tratamientos	Estomas adaxiales (μm)		Estomas abaxiales (μm)		Poros estomáticos adaxiales (μm)		Poros estomáticos abaxiales (μm)	
	Alto	Ancho	Alto	Ancho	Alto	Ancho	Alto	Ancho
DR	26,14±3,51 ^{bc}	19,73±3,97 ^{bi}	24,08±3,47 ^{ahk}	18,43±2,91 ^{ahj}	14,02±2,95 ^{djl}	5,86±1,59 ^b	14,06±2,60 ^b	6,72±1,60 ^a
DB	26,80±3,39 ^a	20,42±2,53 ^{aeghi}	23,05±4,34 ^{bijk}	16,59±3,05 ^{bdfij}	17,01±3,38 ^{ahk}	8,25±2,27 ^{ac}	14,09±3,74 ^b	6,03±1,41 ^a
DM	26,17±3,39 ^{bc}	18,71±3,53 ^{bth}	25,64±4,99 ^{adgj}	18,54±3,01 ^{agi}	14,81±3,30 ^{cfgikl}	5,95±1,72 ^b	14,78±3,65 ^{bc}	6,18±1,34 ^a
C	27,26±3,80 ^a	19,05±2,62 ^{bg}	23,33±3,64 ^{bfg}	16,55±2,78 ^{bcegh}	16,29±3,33 ^{bdhij}	6,85±2,07 ^{bcd}	13,57±3,24 ^b	5,67±2,01 ^a
AR	23,91±3,90 ^{bc}	16,49±2,26 ^{cdf}	23,31±3,71 ^{bcd}	18,20±2,73 ^{aef}	13,54±2,66 ^{dg}	5,86±1,48 ^b	12,67±2,23 ^b	7,27±2,02 ^a
AB	28,15±3,93 ^a	17,73±3,15 ^{bd}	23,99±2,96 ^{acf}	18,35±3,14 ^{acd}	16,84±3,97 ^{adf}	6,34±1,79 ^b	13,78±3,24 ^b	6,68±2,38 ^a
AM	28,28±3,10 ^a	19,94±1,96 ^{be}	26,44±2,28 ^a	18,84±2,70 ^a	18,92±2,23 ^a	8,23±1,49 ^{ad}	16,77±2,14 ^a	7,04±1,75 ^a

Los valores en columnas seguidos de letras iguales indican que no existen diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. Leyenda: **AB**: azul antes del periodo de oscuridad; **AM**: azul/rojo antes del periodo de oscuridad; **AR**: rojo antes del periodo de oscuridad; **C**: control; **DB**: azul después del periodo de oscuridad; **DM**: azul/rojo después del periodo de oscuridad; **DR**: rojo después del periodo de oscuridad. *Casillas de color azul y rosa representan los menores y mayores valores obtenidos, respectivamente.

DISCUSIÓN

- **Producción de Biomasa**

La exposición breve a LEDs de luz azul antes del período de oscuridad (AB) estimulan el crecimiento en *Beta vulgaris* var. *cicla*, como indican los valores superiores de peso fresco y seco totales, particionado en raíz y peso fresco de hoja (Figura 10) el cual coincide con valores superiores en el tamaño de los estomas y del poro del complejo estomático (Tabla 6).

El efecto de la exposición de lámparas leds sobre el crecimiento de las plantas durante períodos breves es muy variable en los diferentes grupos de plantas, la respuesta está influenciada por la especie, la composición del espectro de luz led, del tiempo de exposición, así mismo, si la exposición se realizó antes o después del período de oscuridad. De acuerdo a los estudios de Sung y Takano (1997), las plantas de *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae) expuestas a luz azul después del período de oscuridad (DPO) durante un lapso 30 minutos presentaron un incremento en el peso fresco del vástago y del AFE. Resultados similares son reportados por Chinchilla *et al.* (2018) en plantas de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae), con la diferencia de que en dicho estudio, el período de irradiación con luz azul se realizó durante 60 minutos antes del período de oscuridad (APO). Sin embargo, Hanyu y Shoji (2002), reportaron una tendencia opuesta en *Spinacia oleracea* L. (Amaranthaceae), dado que los mayores valores de peso fresco y AFE correspondieron a los tratamientos con rojo lejano (DR) y la combinación de azul y rojo antes de someterlas al período de oscuridad, y la misma tendencia en plantas de *Anethum graveolens* L. (Apiaceae) irradiadas con luz roja después de un período de oscuridad (Fraszczak, 2013).

Esta diversidad de resultados dificultan la generalización de la respuesta de las plantas a diferentes tipos de espectro de absorción lumínico, y resulta aún más complejo, por el hecho de que no solo la respuesta del crecimiento a diferentes calidades varía en función de la especie; sino que además, puede variar dependiendo del cultivar, de acuerdo a un estudio comparativo realizados por Chinchilla *et al.* (2018) en dos cultivares de *Lactuca sativa*, así también está fuertemente influenciada por la fuente de suministro lumínico a la cual se exponen en este tipo de ensayo durante su desarrollo. Ilustrando este último punto, en los ensayos descritos anteriormente, la luz solar se sustituye por lámparas fluorescentes blanco o LEDs blanco; mientras que en el presente ensayo realizado en plantas de acelga, éstas se expusieron desde la siembra a luz solar, en condiciones controladas durante el día. En este sentido, es importante tomar en consideración tanto la fuente de luz, como la calidad del espectro bajo el cual se desarrollan las plantas. Al utilizar luz artificial blanca, se le está proporcionando de manera constante, toda la gama de diferentes longitudes de onda a la planta y por lo tanto, se está estimulando en forma permanente los diferentes pigmentos receptores que estimulan el crecimiento, lo cual no ocurre en condiciones naturales, donde la calidad del espectro de luz va cambiando en el transcurso del día, iniciando con valores elevados de luz UV y azul y alcanzando los mayores valores del rojo lejano en horas de la tarde (Chinchilla *et al.*, 2018). Por otro lado, al comparar nuestros resultados con el estudio de Hanyu y Shoji (2002), es importante tomar en consideración que dichos autores se enfocaron en comparar el efecto de la de LEDs luz azul y roja simultáneamente y no entre tratamientos de luz antes y después de un período de oscuridad (APO y DPO, respectivamente).

Los mayores valores de peso fresco en hoja corresponden a los tratamientos DR, DB, AB y AM (Figura 10b), donde las plantas del tratamiento AM también representaron el grupo con láminas foliares de mayor espesor, células clorenquimáticas y estomas de mayor tamaño en ambas superficies de la lámina foliar (tablas 3, 4 y 6). De acuerdo a nuestros resultados, la exposición breve a luz azul y luz roja, de manera consecutiva antes de un periodo de oscuridad (tratamiento AM) estimula el desarrollo foliar y aporta evidencia de que la luz azul monocromática estimula el desarrollo de *Beta vulgaris* var. *cicla*, de acuerdo a los valores de peso fresco de hoja observados en los tratamientos DB, AB y AM y los valores de raíz en el tratamiento AB (Figuras 10a y d).

Es factible que este incremento en el peso fresco de hojas y raíces en la plantas expuestas a luz azul (Figura 16), esté vinculado con la estimulación de procesos de biogénesis de cloroplasto (Christopher, 1996; Huala y Briggs, 1999; Thum *et al.*, 2001) y la conductancia estomática (Inoue y Kinoshita, 2017) inducidos por luz azul. En los procesos relacionados con la inducción de la biogénesis del cloroplasto por la luz azul se incluyen la activación de los fotoreceptores cry1, cry2 y phyA; los cuales, a través de un factor sigma, modulan la actividad del promotor psbD-LRP. El gen plastídico psbD se encuentra localizado en un operón del cloroplasto, y dicho operón puede ser transcrita por al menos 3 promotores, siendo uno de ellos el promotor que responde a la luz (psbD-LRP). Este gen psbD, codifica la transcripción de la proteína D2 del Centro de reacción PSII (Thum, 2001). De acuerdo a los estudios realizados por Christopher (1996); la exposición a $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en luz azul activa factores de transcripción nucleares que se requieren para la transcripción de psbD-psbC LRP, los cuales codifican subunidades proteicas del PSII. Por otro lado, los fotoreceptores cry1 activados por luz azul, inducen la expresión de los genes

“Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase P” GAPB y “Ribulose bisphosphate carboxylase small chain” rbcS; ambos genes nucleares que codifican proteínas del cloroplasto implicadas en el ciclo de Calvin (Briggs y Huala, 1999). Las fototropinas activas por su parte, inducen la apertura estomática, lo cual ha sido relacionado con un mayor crecimiento en plantas de *Lactuca sativa* expuestas a luz azul después del periodo de oscuridad, como consecuencia de la activación más temprana del aparato fotosintético, y por ende, una reducción en la limitación de la difusión del CO₂ (Jishi *et al.*, 2016). De lo anterior, es factible inferir que este conjunto de procesos moleculares y fisiológicos explican los mayores valores de peso fresco de hoja (DB, AB y AM) y raíz (AB) observado en las plantas expuestas a luz azul monocromática o en combinación con luz roja.

Es preciso señalar un aspecto clave de nuestro trabajo, y es el efecto que generó la exposición a una longitud de onda en particular en un momento preciso del día, bien sea antes o después de un periodo de oscuridad, lo cual pareciera inducir diferencias significativas. En la Figura 10a apreciamos que las plantas irradiadas con luz azul antes del periodo de oscuridad (AB) presentaron mayor peso fresco total respecto a las que se irradiaron con luz azul y rojo después del periodo de oscuridad (DM); por tanto, parece que el momento y duración de la exposición a una longitud de onda en particular, afectaron la producción de biomasa en las plantas de *Beta vulgaris* L var *cicla*.

Conociendo los procesos fisiológicos desencadenados por la exposición de las plantas a la luz azul, podemos mencionar los efectos generados por la luz roja; recordemos que a las plantas de los tratamientos AR, DR, AM y DM se les proporcionó de manera artificial luz roja, mientras que el resto de los tratamientos (Control, AB y DB) recibieron luz roja natural al final del día de manera natural a través de los rayos solares, así como también

todos los tratamientos recibieron luz azul natural durante las primeras horas del día. La luz roja también está involucrada en biogénesis de cloroplastos (Yoo *et al.*, 2019), así también en biosíntesis de clorofila, desarrollo del cloroplasto (Jie *et al.*, 2013) y transcripción de genes que codifican para PSII y RUBISCO (Christopher, 1996). Los fitocromos fotoactivos por luz roja cumplen su papel en biogénesis del cloroplasto, estimulando el ensamblado de la ARN polimerasa plastídica (PEP), causando incrementos en la expresión de genes plastídicos asociados a la fotosíntesis (PhAPGs) (Yoo *et al.*, 2019). Jie *et al.* (2013), han descrito el papel del phyB fotoactivado por luz roja en el desarrollo de cloroplastos afectando el número de grana y el sistema de membrana, así también en la biosíntesis de clorofila mediando la expresión del gen PORA y Lhcb “The light-harvesting complex”, los cuales codifican para NADPH: protoclorofilida-oxidoreductasa y para varias proteínas de unión a Chl a/b, respectivamente. El papel del este último gen ya había sido previamente reportado por Christopher (1996), quien observó que la luz roja a través de phy, además de inducir la transcripción de genes nucleares como Lhcb y rbcS, induce la transcripción del gen plastídico rbcL, sabiendo que el primero codifica para subunidades del PSII y los dos últimos para subunidades de RUBISCO.

Es factible que los valores de peso fresco totales obtenidos en el tratamiento de plantas expuestas luz azul antes del periodo de oscuridad (AB) en *Beta vulgaris* var *cicla* (Figura 10a) fuese consecuencia de una apertura estomática inducida por luz azul (Ballard, 2018) de forma artificial a través de la luz led azul, en condiciones que optimizan el desempeño de la maquinaria enzimática fotosintética previamente estimulada por su exposición tanto a luz azul y roja proporcionada de manera natural por la luz solar (Christopher, 1996; Briggs *et al.*, 1999; Jie *et al.*, 2013; Thum *et al.*, 2001; Yoo *et al.*, 2019), lo cual se reflejaría en

una mayor conductancia estomática, y por ende en mayores tasas de asimilación de CO₂; a diferencia de las plantas que recibieron la exposición de luz azul después del período de oscuridad (DM), donde a pesar de que las plantas tuvieron dos eventos donde se estimuló la apertura estomática a través de la exposición a luz azul (una de manera artificial con el uso de LEDs durante la mañana y otra de manera natural por la luz solar), quizás el periodo de 30 minutos de exposición a luz roja artificial fue insuficiente para activar la síntesis de las enzimas involucradas en la fotosíntesis, y ello explique las diferencias de peso fresco observadas entre ambos tratamientos (Figura 16).

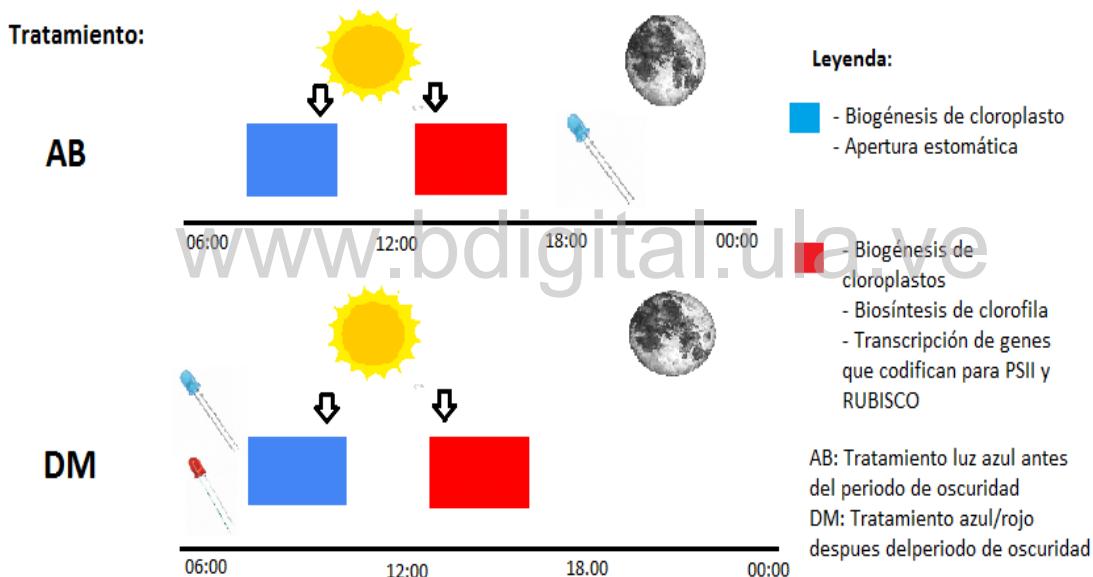


Figura 16: Longitudes de ondas percibidas por las plantas en el transcurso del día de manera artificial a través de luces LEDs y natural por medio del sol asociado a los procesos fisiológicos que desencadenan, en los tratamientos de luz azul antes del periodo de oscuridad (AB) y luz azul/rojo después del periodo de oscuridad.

En este estudio comparativo, llama la atención las diferencias entre el peso fresco y seco de las hojas de las plantas de los distintos tratamientos (Figura 10.b), el cual se relaciona directamente el contenido hídrico foliar, que juega un papel importante en la fotosíntesis, pero también se encuentra relacionado a otras variables fisiológicas como el turgor foliar, la

conductancia estomática, la transpiración, la respiración y el crecimiento, (Huang *et al.*, 2019). A mayor contenido hídrico foliar podría esperarse mayores tasas fotosintéticas (Huang *et al.*, 2019) y quizás una mayor producción de fotoasimilados, los cuales pudieron ser transportados desde las hojas hasta las raíces, y explicarían los mayores valores observados en los tratamientos expuestos a luz azul.

Tomando en cuenta, que a todos los tratamientos se les proporcionó la misma cantidad de agua y la respuesta en la producción de raíces fue diferente entre los tratamientos, este mayor peso fresco y seco en raíces en el tratamiento AB (Figura 10.d) se atribuye a la exposición a luz azul antes del periodo de oscuridad. Este efecto directo de la luz azul en el crecimiento de raíces ha sido comprobado previamente, Sakaguchi *et al.*, (2019) trabajaron con plantas de *Arabidopsis thaliana* L. (Brassicaceae) las cuales fueron expuestas a luces leds azul, rojo y blanco, a una DFF de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, hallando un mayor crecimiento de raíz en las plantas expuestas a luz azul. El incremento en el crecimiento de la masa radicular en las plantas expuestas a luz azul se atribuyó a la activación de los fotoreceptores CRY1 y CRY2 (Sakaguchi *et al.*, 2019), que transmiten el estímulo lumínico percibido en el vástago hasta la raíz (Canamero *et al.*, 2006); lo cual promueve la acumulación de la enzima DWF4 en el ápice de raíz primaria (Sakaguchi *et al.*, 2019). La enzima DWF4 es clave para la biosíntesis de brasinoesteroides, fitohormonas indispensables para el desarrollo de la planta en diferentes estadios (Sakaguchi *et al.*, 2019), donde estimulan la elongación celular y división celular en órganos en desarrollo (Kim *et al.*, 2006); pudiendo así explicar la respuesta de un mayor crecimiento de raíz en las plantas de *Beta vulgaris* var *cicla* expuestas a luz azul en el presente estudio. Sin embargo, queda por dilucidar si la acumulación de la enzima DWF4 en el ápice de raíz depende de la hora del día en la que las

plantas son expuestas a la luz azul, ya que en el presente trabajo se observaron diferencias del crecimiento de raíz dependiendo de si la exposición ocurrió antes o después del periodo de oscuridad, y en este caso, la mayor producción de raíces correspondió a las plantas expuestas a luz azul antes del periodo de oscuridad.

En trabajos previos en plantas expuestas a distintas longitudes de onda donde cuantificaron peso fresco o seco de raíz pudo apreciarse el efecto de luz azul en la generación de mayor peso fresco y seco de raíz. Tanaka (1998) expuso plantas de *Cymbidium floribundum* Sw. (Orchidaceae), a luces led azul, rojo, azul/rojo y blanco, este último bombillo led utilizado en el grupo control, durante 16 horas bajo una DFF de $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obteniendo diferencias significativas de peso seco de raíz, donde los valores más altos correspondieron a las plantas del tratamiento control y al tratamiento que combinaba luz azul y roja, pero no halló diferencias significativas en el peso fresco de las raíces. Shin *et al.* (2008) trabajaron con plantas de *Doritaenopsis* Hort. (Orchidaceae) expuestas durante 16 horas a luces led azul, rojo y mixto, a una DFF de $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y demostraron que las plantas que recibieron tratamiento mixto de luz azul y roja presentaron los mayores valores de peso fresco de raíz, respecto a las que recibieron por separado luz roja y azul; también que los mayores valores de peso seco de raíz correspondieron a las plantas que recibieron los tratamientos de luz azul y mixto. Por último, los estudios realizados por Johkan *et al.* (2010) en plántulas de *Lactuca sativa*, expuestas durante 14 horas a lámparas led rojo, azul y una combinación de ambas, bajo una DFF de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ demostraron que las plantas que recibieron el tratamiento mixto y rojo presentaron valores de peso seco superiores a los valores observados en el tratamiento control y luz azul monocromática.

Nuestros resultados y algunos de los estudios previamente mencionados indican que la longitud de luz azul de manera aislada o en combinación con luz roja, bien sea a través de la exposición prolongada o breve como en este caso, sin importar la DFF utilizada, genera un mayor peso fresco y seco en raíz, posiblemente a causa de la estimulación de los fotoreceptores CRY1 y CRY2, con la consecuente acumulación de la enzima DWF4 involucrada en biosíntesis de brasinoesteroides, que a su vez estimulan los procesos de elongación y división celular, lo cual se traduce en un incremento en el crecimiento y biomasa de la planta (Kim *et al.*, 2006; Sakaguchi *et al.*, 2019).

Sin embargo es preciso señalar, que no es posible determinar si el mayor desarrollo a nivel de raíz pudo generarse también como respuesta a un mecanismo relacionado al estrés generado por la exposición a luz azul, lo cual se vería reflejado en un mayor desarrollo de raíces en busca de agua para contrarrestar la perdida de vapor agua causada por la apertura estomática prolongada por la exposición a luz azul.

Respuestas de estrés generadas en plantas por exposición a luz azul ha sido previamente reportado, en *Kalanchoe pinnata* L. (Crassulaceae) ha ocurrido una mayor acumulación de compuestos fenolicos los cuales tienen actividad antioxidante protegiendo a las plantas contra el estrés oxidativo causado por las condiciones ambientales (Nascimento *et al.*, 2012). Así también, se ha demostrado que los criptocromos sintetizan especies reactivas de oxígeno (ROS) en respuesta a la luz azul, las cuales se acumulan en el núcleo, e inducen la transcripción de genes implicados en la defensa de patógenos, estrés bióticos y abiótico (El-Esawi *et al.*, 2017).

Por todo lo expuesto anteriormente, es preciso señalar que con los resultados obtenidos rechazamos la hipótesis que en principio nos planteamos, ya que las plantas expuestas a luz

azul después del periodo de oscuridad no presentaron mayor biomasa, AFE, espesor de la lámina foliar ni mayor desarrollo del clorénquima, puesto que la inducción temprana de la apertura estomática ocasionada por la exposición a luz azul por la mañana no fue razón única para causar cambios significativos a nivel de biomasa respecto al resto de los tratamientos en *Beta vulgaris* var. *cicla*.

Es importante considerar también las respuestas generadas por la exposición a luz roja bien sea de manera natural o artificial, que parecen haber ejercido gran peso en los resultados obtenidos en el presente trabajo, y es que las plantas que obtuvieron mayores valores de biomasa fueron las expuestas a luz azul antes del periodo de oscuridad que justo antes de ser estimulada la apertura estomática por dicha longitud de onda, parece que jugó un gran rol esta optimización enzimática derivada de la exposición a luz roja de manera natural. Así también, pudo apreciarse la influencia de la luz roja antes del periodo de oscuridad en la generación de mayor peso fresco de las hojas de *Beta vulgaris* var. *cicla*, que vendría siendo el órgano comestible de interés, lo cual debe ser tomado en cuenta para futuros trabajos.

- **Área foliar**

La capacidad de expansión de una hoja está determinada por factores genéticos y ambientales (Volkenburg, 1999). Entre los principales factores ambientales que influyen sobre su desarrollo está la calidad de luz (Silvestri *et al.*, 2019). Hasta la fecha, no se sabe con certeza el efecto específico que ejerce la longitud de onda sobre la expansión foliar, y por ende sobre el AFE. Estudios previos sugieren que la exposición a luz azul y roja por separado inducen un incremento en el AFE; de acuerdo a los estudios de Hanyu y Shoji (2002), en *Spinacia oleracea*, expuesta a diferentes tiempos de exposición, que abarcaban

intervalos comprendidos entre 30 minutos y 6 horas, revelaron los menores valores de AFE en las plantas que recibieron luz blanca, respecto a las que recibieron luz azul o roja. Resultados similares son descritos por Wang y Cui (2015), en plantas de *Cucumis sativus*, quienes reportan los mayores valores de AFE en el tratamiento expuesto a luz azul durante 12 horas. En contraste, Chinchilla *et al.* (2018) reportan una disminución significativa del AFE en plantas de *Lactuca sativa* expuestas a luz roja después del periodo de oscuridad durante 1 hora, respecto a las plantas que recibieron luz blanca antes del período de oscuridad. Estas diferencias podrían estar vinculadas al hecho de que la luz blanca abarca una amplia gama de espectros lumínicos, entre ellos luz roja y azul. Por lo tanto, una exposición prolongada a luz blanca artificial estimula la acción de diferentes fotoreceptores y procesos bioquímicos relacionados con los procesos de crecimiento, asimilación de carbono y la biogénesis de cloroplasto, en el caso de la estimulación inducida por luz azul (Thum, 2001); así como la biosíntesis de clorofila, aumento en la transcripción de rubisco y de enzimas del PSII, en el caso de la estimulación por luz roja (Christopher, 1996; Jie *et al.*, 2013), lo cual se traduce en un incremento neto del AFE. Resultados similares son descritos por Chen *et al.* (2020) en plantas de *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae); en dicho estudio, los menores valores de AFE correspondieron a las plantas que recibieron exclusivamente luz roja durante un período de 16 horas, los mayores valores correspondieron a las plantas que recibieron exclusivamente luz azul y valores intermedios en las plantas expuestas a tratamientos mixtos que combinaban simultáneamente azul y rojo durante el mismo intervalo de tiempo.

En nuestro estudio el menor valor de AFE corresponde a las plantas expuestas a luz roja monocromática después del periodo de oscuridad (DR) (Figura 11), pudiendo encontrarse

relacionado con la activación del fitocromo phyB por luz roja, inhibiendo la expresión de genes como ERECTA y EXPANSIN, que pertenecen a la familia de genes involucrados en la expansión celular de los tejidos foliares (Liu *et al.*, 2011). En el presente estudio realizado en *Beta vulgaris* var *cicla*, no se encontraron diferencias significativas en el peso seco en hoja entre los tratamientos realizados, lo cual explica en parte que no se observaran diferencias en los valores de AFE (Figura 10b y 11) entre los tratamientos. La única diferencia significativa que hallamos de las variables cuantificables estudiadas, atribuible a la exposición a un suministro de luz artificial de lámparas LEDs, fue el contenido hídrico foliar, que se reflejó en diferencias en el peso fresco. Es importante tener en consideración que no todas las especies responden a la exposición a luz azul y/o roja artificial del mismo modo, también es factible que en el presente estudio, el tiempo de exposición a la fuente de luz artificial azul y/o roja no fuese suficiente, o que la proporción de luz azul y roja fuese insuficiente como para inducir diferencias significativas en el AFE, pudiendo causar los resultados encontrados en nuestros trabajo y en estudios previos similares como los realizados en *Sinningia speciosa* Lodd. (Gesneriaceae) y en *Cordyline australis* G. Forst. (Asparagaceae) (Zhen y Labeke, 2017), donde tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos expuestos a luces LED rojo, azul y la combinación de ambos, durante períodos de 16 horas consecutivas.

Basándonos en los resultados de estudios previos y en nuestros resultados, suponemos que el efecto de la exposición a luz artificial azul y/o roja sobre el área foliar, y por ende sobre el AFE es especie específica; así como también lo debe ser el tiempo de exposición a las mismas, dado que el tiempo de exposición utilizado por diferentes investigadores varió desde 30 minutos (Hanyu y Shoji, 2002 y el presente estudio), 1 hora (Chinchilla *et al.*,

2018), 6 horas (Hanyu y Shoji, 2002), 12 horas (Wang y Cui, 2015) y 16 horas (Zhen y Labeke, 2017; Chen *et al.*, 2020). Del mismo modo, la DFF de la luz suplementaria suministrada influyó sobre la respuesta de las plantas durante su desarrollo; desde 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tanto para luz azul, rojo o mixto (Hanyu y Shoji, 2002; Wang y Cui, 2015; Chinchilla *et al.*, 2018), 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz azul y 60-62 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz roja en el presente estudio, y hasta 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para cada tipo de luz, fuese azul, rojo y mixto (Chen *et al.*, 2020; Zhen y Labeke, 2017), con resultados muy variados. Por dicho motivo, se recomienda estandarizar no solo tiempo de exposición, sino también la DFF. Cuando comparamos nuestro estudio con estudios previos que emplearon una DFF similar ($\pm 50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), encontramos que el tiempo de exposición es probablemente el factor que determinó que los valores no fuesen contrastantes en el AFE, dado que Hanyu y Shoji (2002), Wang y Cui (2015) y Chinchilla *et al.* (2018), utilizaron con una DFF similar a la nuestra y encontraron diferencias significativas en el AFE, utilizando intervalos de exposición superiores, de 1 hora (Chinchilla *et al.*, 2018), 6 horas (Hanyu y Shoji 2002) y 12 horas (Wang y Cui, 2015). Por tanto, se recomienda para futuros trabajos incrementar el intervalo de exposición a las lámparas leds a un periodo mínimo de 1 hora, para una DFF de $\pm 50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

- **Anatomía foliar**

En el presente estudio, observamos que la exposición a luz azul monocromática y en combinación con luz roja durante 25 minutos, provocó un incremento significativo en el tamaño de las células epidérmicas adaxiales de *Beta vulgaris* var. *cicla*, particularmente si la exposición ocurre antes del periodo de oscuridad (AB y AM) y no después del mismo (DB y DM). Del mismo modo, pudimos comprobar que la exposición a luz roja

monocromática antes y después del período de oscuridad (AR, DR), induce la disminución en el tamaño de las células epidérmicas en ambas caras de la lámina foliar de esta especie (Tabla 3).

Estos resultados confirman la influencia de la luz azul de manera monocromática o en combinación con luz roja sobre el aumento del tamaño de las células epidérmicas adaxiales y la influencia de la luz roja en las células de la epidermis causando menores tamaños, así como fue encontrado a su vez por Zhen y Labeke (2017) y Li *et al.* (2020) en *Cordyline australis*, *Ficus benjamina* L.(Moraceae), *Sinningia speciosa* y *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) respectivamente. Con el presente trabajo podemos afirmar que la exposición a luz azul con una DFF $> 40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ induce un incremento en las dimensiones de las células epidérmicas ya que estudios previos obtuvieron esta misma respuesta pero utilizaron una DFF de 100 y $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en *Cordyline australis*, *Ficus benjamina* y *Sinningia speciosa* (Zhen y Labeke, 2017) y en *Capsicum annuum* (Li *et al.*, 2020), respectivamente. Una posible explicación a estos cambios en las dimensiones de las células epidérmicas en respuesta a la exposición de luz azul pudiese estar relacionado con los mecanismos de adaptación que han generado las plantas a luz de menores longitudes de ondas, como ha sido estudiado en luz UV, ya que al ser fotones de mayor energía, pueden ser particularmente perjudiciales durante las primeras etapas de desarrollo y también provocar daños a nivel del aparato fotosintético.

Entre otros efectos relacionados con la exposición a luz UV está el incremento de especies de O_2 reactivo y la síntesis de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos los cuales tienen propiedades antioxidantes (Carrasco-Ríos, 2009; Victorio *et al.*, 2011). Es probable que la exposición a luz azul al poseer longitudes de onda cercanas a la luz UV

genere respuestas similares, por activar los mismos fotoreceptores (Victorio *et al.*, 2011), pudiendo desencadenar una señal similar, generando así, la inducción una mayor expansión de las células epidérmicas adaxiales, lo cual no ocurre cuando se exponen a luz roja.

En las figuras 13, 14 y 15 se aprecian las variaciones en el contorno de las células pavimentosas y de manera contrastante, los tratamientos AM y AR. De acuerdo a nuestros resultados, las células pavimentosas observadas en el tratamiento AM, caracterizadas por contornos marcadamente más sinuosos, con lóbulos de mayor tamaño, podría estar influenciado por el incremento en el grosor de la lámina, lo cual provoca un mayor estrés mecánico a nivel de tejido y en consecuencia, requiere de mayor zona de contacto entre las células epidérmicas. El mayor tamaño de las células aunado al incremento en la sinuosidad de las células epidérmicas adaxiales observadas en las plantas expuestas al tratamiento AM contrasta con lo observado en los tratamientos AR, AB y DB, caracterizados por presentar láminas foliares de menor espesor y presumiblemente sujetas a menor estrés mecánico; caracterizadas por desarrollar células epidérmicas adaxiales de menor tamaño, contornos poco sinuosos y lóbulos más cortos (Figura 13, 14, 15). Cabe mencionar que este estudio es el primero que analiza la influencia de la exposición a longitudes de onda azul y roja con una DFF de 60-62 y 42-47 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente, sobre las variaciones del contorno de las células pavimentosas. Sapala *et al.* (2018) han demostrado a través de modelos de simulación, basados en estudios realizados en mutantes, que la forma intrincada que poseen las células pavimentosas proporciona una estrategia efectiva para reducir el estrés mecánico en la pared celular de la epidermis cuando el crecimiento a nivel de tejido es isotrópico. Bajo el estrés producido por la presión de turgencia se generan los lóbulos que emergen a

nivel celular, evitando así la formación de células isodiamétricas, siendo la forma menos favorable en condiciones de estrés por alta presión de turgencia.

Otra de las variables anatómicas consideradas fue el clorénquima, cuya función fotosintética en el mesófilo, según Uemoto *et al.* (2018) aporta el 80% del total del ARN sintetizado en la hoja. El clorénquima es típicamente bifacial en dicotiledóneas como *Beta vulgaris* var *cicla* y aunque tanto el clorénquima en empalizada como el esponjoso desempeñan la fotosíntesis, difieren en algunas de sus funciones, como también en su morfología y distribución dentro del mesófilo. Las células del mesófilo en empalizada llevan a cabo la mayor proporción del proceso fotosintético, debido a la gran cantidad de cloroplastos presentes en las células (Uemoto *et al.*, 2018) y al arreglo de los cloroplastos dentro de las células. Típicamente, las células del parénquima en empalizada se orientan verticalmente favoreciendo una penetración más profunda de la luz. Por su lado, el parénquima esponjoso optimiza la dispersión de luz en el mesófilo (Zheng y Labeke, 2017), a la vez que facilita el proceso de intercambio de gases, gracias a la presencia de espacios intercelulares más amplios entre las células con respecto a las células del parénquima en empalizada, y a la presencia de paredes celulares más delgadas (Uemoto *et al.*, 2018).

Un incremento en el espesor de la hoja típicamente se relaciona con una exposición a intensidades de luz altas, que indican un mayor desarrollo y diferenciación del parénquima en empalizada, lo cual se traduce en un mayor rendimiento fotosintético en la hoja (Li *et al.*, 2010). Esta relación ha sido demostrada previamente en el estudio realizado con lámparas LEDs por Zheng y Labeke (2017) en plantas de *Ficus benjamina*, en el cual demostró la relación entre el incremento en el peso fresco total con el incremento en el espesor de la lámina foliar y mayor desarrollo del clorénquima en las de los tratamientos

expuestos a luz azul, y concluyó que la luz azul inducía una mejor absorbancia en el clorénquima, y por ende, un mejor rendimiento cuántico fotosintético. Resultados similares también fueron descritos previamente por Ying *et al.* (2011), quienes hallaron una correlación entre el incremento en el rendimiento fotosintético y el espesor del parénquima en empalizada en plantas de *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae) irradiadas con luz azul y con la combinación azul/roja.

En este estudio realizado en *Beta vulgaris* var *cicla*, encontramos que la combinación de luz roja y azul indujo un incremento en el espesor de la lámina foliar, dado que los valores más altos correspondieron a los tratamientos de luz azul y roja en secuencia, antes y después del período de oscuridad (AM y DM), lo cual se relacionaba también con un mayor desarrollo del parénquima en empalizada, como se observó en el tratamiento de luz azul y roja antes del período de oscuridad (AM) (Tabla 4). No obstante, a pesar de que las plantas del tratamiento AM presentaron las láminas de mayor espesor en sección transversal, dicho incremento no coincidió con un incremento en el AFE (Figura 11), ni en el peso fresco o seco de la hoja (Figura 10).

Al parecer, el incremento en el espesor de la lámina foliar no siempre está relacionado con un incremento en el peso fresco de la hoja, como sugiere el estudio realizado por Li *et al.* (2010) en *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae), dado que las plantas que presentaron el mayor desarrollo del clorénquima (tanto de empalizada como esponjoso) correspondieron al grupo que recibió exclusivamente luz azul; mientras que el grupo que presentó el mayor peso fresco total, fue el que recibió una combinación de luz azul y roja. Resultados similares son descritos por Chen *et al.* (2020) en *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae); dicho estudio demostró que la exposición a luz azul en combinación con luz roja induce un

mayor desarrollo de los cloroplastos, y por ende un mayor desarrollo del clorénquima. No obstante, aún cuando la anatomía nos aporta información acerca de la organización de las células y dimensiones en la hoja, también es importante indagar lo que ocurre a nivel bioquímico y fisiológico en la planta, lo cual no fue posible llevar a cabo en el presente estudio realizado en *Beta vulgaris* var *cicla*.

Es importante tener en consideración que en los estudios descritos anteriormente, se analizó el efecto de la luz azul y roja (solos o en combinación) sobre caracteres anatómicos foliares, en plantas en desarrollo sometidas a períodos prolongados de luz artificial suministrada por lámparas led; 12 horas en el caso de Li *et al.* (2010) y Ying *et al.* (2011) y de 16 horas en el caso de los estudios realizados por Zhen y Labeke (2017) y Chen *et al.* (2020); mientras que en el presente estudio, la exposición con lámparas led monocromáticas azul y rojo, solos o de manera secuencial, se realizó durante un lapso de 30 minutos, durante 28 días, por lo que este es el primer estudio en el cual se exploran cambios anatómicos en plantas irradiadas durante intervalos más breves antes y después de un período de oscuridad. Así mismo es preciso señalar, que los días en los que se llevó a cabo la irradiación de manera artificial a través de luces leds fueron similares tanto en el trabajo presente con un total de 28 días de irradiación como en los trabajos realizados por Chen *et al.* (2020), Ying *et al.* (2011), Li *et al.* (2020), Li *et al.* (2010) irradiando las plantas entre 28 y 30 días.

Según Kozuka *et al.* (2011), existen dos mecanismos dependientes de la intensidad lumínica que contribuyen a la generación de la forma cilíndrica que presentan las células del parénquima en empalizada; uno de los mecanismos se genera en respuesta a la exposición a luz azul ($< 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a través del receptor phot2, el cual influye en la orientación cilíndrica de las células en empalizada, favoreciendo la orientación

perpendicular respecto a la epidermis, lo cual maximiza la absorción de luz por dichas células, aumentando así eficiencia de la fotosíntesis. El otro mecanismo relacionado con la orientación de las células del parénquima en empalizada es independiente de phot2, y se desencadena bajo intensidades lumínicas superiores a $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

El presente estudio corrobora los resultados de Kozuka *et al.* (2011), dado que las plantas expuestas al tratamiento con luz roja monocromática después del período de oscuridad (DR y AR) se caracterizaron por presentar células del parénquima en empalizada más cortas, de contornos isodiamétricos a rectangulares, y en general, poco diferenciadas de las células del parénquima esponjoso, en contraste con lo que observamos en las hojas de las plantas de los tratamientos que recibieron irradiaciones de luz azul, sola o en combinación con luz roja (DB, AB, DM y AM)(figura 12). Es probable que el desarrollo más limitado del parénquima en empalizada de las plantas del tratamiento AR este asociado a un menor rendimiento fotosintético (aunque no pudimos medirlo en este estudio), y ello explicaría los valores de peso fresco foliar inferiores del tratamiento AR respecto al resto de los tratamientos.

Otro cambio importante observado en las plantas del tratamiento AR fueron los valores de densidad estomática, siendo en ambas caras inferiores a los obtenidos en los otros tratamientos (Tabla 5), así como estomas y poros de menor tamaño en la cara adaxial de la lámina foliar (Tabla 6).

También es importante destacar que la hora del día en la cual se irradiaron las plantas con luz roja monocromática también influye sobre el desarrollo del clorénquima. De acuerdo a nuestros resultados, las plantas que recibieron el tratamiento DR presentaron células del parénquima en empalizada más cortas e isodiamétricas (Figura 12) a la vez que estomas de

mayor tamaño y en mayor densidad en la cara abaxial y mayores valores de peso fresco más altos que el resto de los tratamientos incluyendo las plantas del tratamiento AR (tablas 5 y 6; Figura 10). El mayor desarrollo del parénquima esponjoso observado en las plantas de los tratamientos irradiados con luz roja monocromática pudiese estar relacionado con un incremento en el espesor de la lámina foliar y una mayor eficiencia en el intercambio de gases, esto último hubiese sido interesante determinarlo para robustecer los resultados obtenidos, sin embargo por problemas técnicos con el equipo a utilizar no pudo llevarse a cabo.

En contraste con lo observado en las plantas de los tratamientos irradiados con luz roja monocromática antes y después del período de oscuridad (AR, DR), las plantas de los tratamientos con luz azul (AB, DB) presentaron una estructura anatómica más similar (Figura 12), caracterizadas por un clorénquima más compacto, similar al de las plantas del tratamiento control, que fácilmente se diferenciaba de las plantas irradiadas con luz roja monocromática y la combinación de azul/rojo. La principal diferencia observada entre los tratamientos con luz azul (AB y DB) fueron los cambios en el tamaño de las células en empalizada, dado que éstas eran visiblemente más altas y cilíndricas el grupo de plantas irradiado con luz azul antes del período de oscuridad (AB), respecto a los otros tratamientos, incluyendo el control y el grupo irradiado con luz azul después del período de oscuridad (DB).

El grupo de plantas del tratamiento AM (radiación roja/azul antes del periodo de oscuridad) se destacó por presentar células tanto epidérmicas como del clorénquima de mayor tamaño que todos los tratamientos restantes (Tabla 3). El hecho de que presentara las células clorenquimáticas (empalizada y esponjosos) de mayores dimensiones, aunado a una

densidad estomática superior en ambas caras respecto a los otros tratamientos, así como estomas de mayor tamaño y con poros más grandes, sugieren que la combinación de luz roja y azul durante lapsos breves de exposición a luces LEDs antes de un período de oscuridad, estimula procesos de diferenciación de los caracteres anatómicos (Ying *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2020), y se cumple en plantas en desarrollo de *Beta vulgaris* var *cicla* irradiadas con ambas longitudes de manera secuencial, antes del periodo de oscuridad.

Por último, es interesante mencionar la presencia de un metabolito secundario (no identificado) en todos los tratamientos que era particularmente abundante en el parénquima esponjoso (Figura 12). Mzoughi *et al.* (2018), describen en hojas de *Beta vulgaris* var *cicla* la presencia de diferentes compuestos como, ácidos grasos (esteárico, palmítico ácidos linoleico oleico y linolénico), fosfolípidos, glicolípidos, polisacáridos, ácido ascórbico, ácido fólico, pectinas, saponinas, flavonoïdes (apigenina), ácidos fenólicos y betalaínas (pigmentos hidrosolubles), los cuales tienen propiedades antioxidantes, anti-acetilcolinesterasas, anti-diabéticas, antiinflamatorias, antitumorales y con efecto hepatoprotector. A pesar de que nuestro trabajo no tuvo como objetivo la determinación de metabolitos secundarios inducidos por la exposición a luz artificial azul y/o roja, a futuro podría ser conveniente determinar la composición de los metabolitos secundarios observados en la lámina foliar de esta especie; sin embargo, su estructura y coloración cuando son expuestos a métodos de tinción, sugieren que se tratan de compuestos fenólicos; no obstante, es imprescindible realizar estudios fitoquímicos para hacer dicha afirmación.

- **Influencia de la irradiación con luz artificial azul y/o roja sobre el complejo estomático**

Los estomas funcionan como la interfaz entre las plantas y la atmósfera, regulando el intercambio gaseoso, equilibrando la absorción de CO₂ y la pérdida de vapor de agua. La regulación del desarrollo del complejo estomático es crítico en la adaptación de las plantas a las condiciones ambientales que las rodean (Hepworth *et al.*, 2018).

Numerosos estudios confirman la influencia de la luz en el desarrollo estomático (Figura 16); particularmente el modelo propuesto por Wei *et al.* (2020), el cual explica el efecto de las diferentes longitudes de onda sobre los fotorreceptores y las respuestas celulares generadas. De acuerdo a este modelo, COP1 activa la cascada “YODA protein” YDA – “Mitogen-activated *protein kinase4/5” MKK4/5 – “Mitogen-Activated Protein Kinase 3/4” MAPK3/6 para mediar la degradación de las proteínas SPCH e ICE1, o de manera directa la degradación de ICE1. La regulación de YDA por COP1 no se ha dilucidado hasta el momento. Sin embargo, se presume que PIF4 reprime la transcripción de los genes SPCH y GNC/GNL, los cuales promueven el desarrollo del complejo estomático mediante la regulación aguas arriba de la expresión de SPCH. En condiciones de luz, los fotorreceptores de luz roja (phyB y phyA) y los fotorreceptores de luz azul CRY1/2 actúan en conjunto para suprimir la actividad COP1 y PIF4 y promover así el desarrollo estomático. La luz también estimula la transcripción y abundancia de la proteína AN3, probablemente a través de las vías mediadas por fotorreceptores, ocasionando la inhibición en la expresión de COP1 y YDA. Las flechas y líneas con barras representan la activación y la inhibición, respectivamente.*

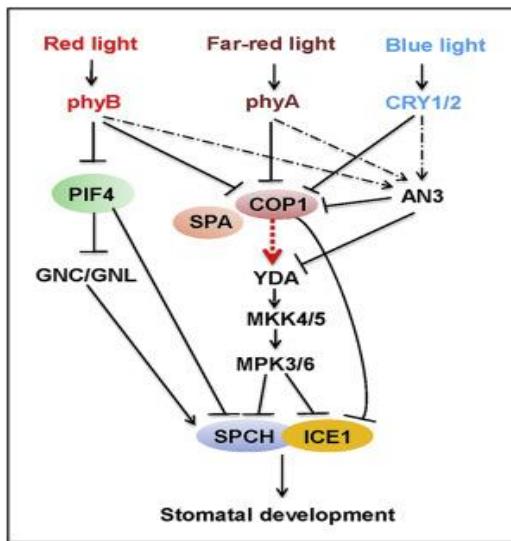


Figura 17. Modelo de regulación del desarrollo estomático a través de la luz roja, roja lejano y azul. Fuente: Wei *et al.* (2020).

El estímulo del desarrollo estomático inducido por la irradiación con longitudes de azul y roja se refleja en un incremento de la densidad estomática. En el presente estudio, podríamos atribuir la elevada densidad estomática observada en ambas caras de la lámina foliar en las plantas de *Beta vulgaris* var *cicla* irradiadas con luz azul + roja antes y después del período de oscuridad (AM y DM, respectivamente). Presumimos que la exposición a ambas longitudes de onda de manera simultánea o consecutiva, se relaciona con la degradación/supresión de PIF4 y COP1, a través de la phyB/phyA y cry1/cry2, respectivamente, lo cual activa la expresión de SPCH y GNC/GNL, y por lo tanto la diferenciación estomática (Wei *et al.*, 2020).

Ying *et al.* (2011) también describieron una mayor densidad estomática en plantas de *Solanum lycopersicum* irradiadas durante 12 horas a luz azul y roja/azul, con respecto al grupo de plantas expuestas exclusivamente a luz blanca, roja o verde durante su desarrollo. Dichos resultados fueron posteriormente corroborados por Zheng y Lebaka (2017), en

plantas de *Ficus benjamina* y de *Sinningia speciosa* irradiadas con luz azul y rojo/azul durante 16 horas consecutivas.

Ballard (2018), estudió el efecto de la irradiación con luz roja y azul durante 5-6 horas sobre la apertura estomática en hojas de *Tradescantia pallida* D.R Hunt (Commelinaceae), utilizando en ambos casos una DFF de $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y observó que la aplicación de luz roja monocromática causaba oscilaciones continuas de apertura y cierre estomático, mientras que al agregarle luz azul estas oscilaciones desaparecieron, y la apertura estomática se producía de manera continua. Este autor concluyó que la luz azul aumenta la conductividad hidráulica del agua del xilema hacia la epidermis, lo cual reduce la pérdida del turgor de presión en hoja. Contrario a los resultados descritos por Ballard (2018), en nuestro estudio las plantas irradiadas con luz roja monocromática (AR y DR) presentaron los estomas y poros de menor tamaño de todos los tratamientos (Tabla 6), y los mayores tamaños correspondieron a las plantas irradiadas con luz azul monocromática (AB y DB). Si asumimos que la luz azul induce una apertura estomática más prolongada (Ballard, 2018), esperaríamos que las plantas de los tratamientos irradiados con luz azul (AB y DB) produjeran una mayor biomasa, lo cual no se cumplió en este estudio (Figura 10), y es posible que la ausencia de diferencias significativas sea consecuencia de un intervalo de exposición muy limitado en este caso (30 minutos en los tratamientos con luz azul monocromática AB y DB y de 15 minutos de luz azul en tratamientos mixtos con luz roja (AM y DM).

La densidad estomática puede afectar la tasa fotosintética, así como también el tamaño del poro estomático. La densidad estomática puede modificar el número de sitios disponibles para que ocurra el intercambio de gases, mientras que cambios en el tamaño del poro

estomático podría influir sobre la conductancia estomática (gs). En este sentido, las hojas con menor densidad estomática tienen menos poros a través de los cuales ocurrir el intercambio de gases, lo cual podría incidir en una disminución en las tasas de conductancia estomática y fotosíntesis inferiores a causa de la disminución en la difusión de CO_2 en la hoja (Wu *et al.*, 2018). Zhang y Li (2019), encontraron que a valores de conductancia estomática (gs) más bajos y λ (tiempo de retraso inicial para la respuesta estomática) más grandes, los estomas pequeños mostraron una disminución más rápida de la concentración intercelular de CO_2 (C_i) durante el proceso de inducción, lo que puede haber conducido a una tasa de activación de Rubisco aparentemente más lenta (Zhang y Li, 2019), lo cual se refleja en un menor rendimiento fotosintético; sin embargo en el presente trabajo contrario a este argumento, encontramos que uno de los tratamientos con los menores valores en las dimensiones de los estomas adaxiales y abaxiales (DR) (Tabla 6), presentaron valores de peso fresco total y de hoja más elevados (Figura 10). Es por esto preciso mencionar que en el presente estudio, no fue posible realizar estudiar el efecto de la exposición a luz azul y roja monocromática, por separado y en combinación sobre el intercambio de gases en *Beta vulgaris* var *cicla*, y por ende, determinar su influencia en el rendimiento fotosintético de dicha especie; por lo que se recomienda realizarlos, utilizando los mismos tiempos de exposición, y también intervalos más largos, con el objeto de estudiar mejor sus efectos sobre la estructura anatómica y respuesta ecofisiológica, teniendo en consideración que ambos serán determinantes en la productividad de este cultivar.

En este ensayo encontramos altos valores de densidad estomática en ambas epidermis y dimensiones del poro del complejo estomático en las plantas que recibieron el tratamiento AB, lo cual podría estar vinculado con una mayor conductancia estomática en las mismas y

por ende mayores tasas de asimilación, que favorecieron un incremento en el peso fresco de hojas y peso fresco y seco de raíces, siendo esta ultima respuesta posiblemente causada por la acumulación de brasinoesteroides, las cuales inducen alargamiento celular en la zona estimulada, en esta caso la raíz. En este mismo sentido, como se mencionó anteriormente, se observó un menor desarrollo del clorénquima total y esponjoso en las plantas expuestas a luz roja después del período de oscuridad (AR), que coincidieron en presentar densidades estomáticas más bajas en ambas caras, así como estomas y poros con dimensiones inferiores, por lo que se esperaría incidiese negativamente en su rendimiento fotosintético y biomasa; sin embargo esto no se refleja en el peso fresco y seco total y particionado en hoja y raíz ya que se encuentra entre los grupos con valores más altos (Figura 10), por tanto, deben haber otras variables que afectaran dicha respuesta en las plantas correspondientes al tratamiento AR las cuales no fueron consideradas en el presente estudio.

www.bdigital.ula.ve

CONCLUSIONES

- Los mayores valores en peso fresco y seco total y de raíz, así también de peso fresco de hoja correspondieron a las plantas irradiadas con luz azul antes del periodo de oscuridad (AB), que además de poseer altos valores de densidad estomática en ambas caras, también presentaron grandes dimensiones en los estomas en cara adaxial y abaxial.
- Se observó un menor desarrollo del clorénquima total y esponjoso en las plantas expuestas a luz roja después del período de oscuridad (AR), que coincidieron en presentar densidades estomáticas más bajas en ambas caras, así como estomas y poros con dimensiones inferiores, por lo que se esperaría incidiese negativamente en su rendimiento fotosintético y biomasa; sin embargo, esto no se refleja en el peso fresco y seco total y particionado en hoja y raíz ya que se encuentra entre los grupos con valores más altos, por tanto, deben haber otras variables que afectaron dicha respuesta en las plantas correspondientes al tratamiento AR las cuales no fueron consideradas en el presente estudio.
- Los mayores valores en los caracteres anatómicos, tales como altura y ancho de células epidérmicas adaxial y abaxial, dimensiones del parénquima empalizada, esponja, estomas y poro estomático, así también, mayor grosor foliar y densidad estomática en ambas caras de la hoja correspondieron a las plantas expuestas a luz azul + rojo después del periodo de oscuridad (AM).
- El presente trabajo confirma la influencia de la luz roja monocromática sobre el desarrollo y diferenciación de las células clorenquimáticas, así como sobre la densidad estomática, independientemente de la hora a la cual se aplica la radiación.

- Se recomienda utilizar un mayor tiempo de exposición con luces leds en los tratamientos AR, AM y AB a modo de determinar si se generan tendencias más marcadas a nivel de peso fresco en hoja que es el órgano comestible y de interés económico en *Beta vulgaris* var. *cicla*

REFERENCIAS

- (1) Acosta-Proaño, F. E. 2015. *Respuesta del cultivo de acelga Beta vulgaris var. cicla L. a la fertilización orgánica foliar*. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador.
- (2) Aduviri, C., Cristina, P. 2016. *Evaluación de dos variedades de acelga (Beta vulgaris var. cicla L.) bajo tres niveles de fertilizante foliar orgánico en sistema hidropónico NFT en Cota Cota*. Tesis de pregrado. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- (3) Alsina, L. 1980. *Horticultura Especial*. Barcelona, España, Edición Sintes, S.A.
- (4) Ballard, T., Peak, D., Mott, K. 2019. Blue and red light effects on stomatal oscillations. *Functional Plant Biology*, 46(2): 146-151.
- (5) Bermúdez, G. 2013. Respuesta de la densidad estomática a características foliares e individuales en tres especies de árboles en Gamboa, Panamá. *Pensamiento Actual*, 13(20): 43-49.
- (6) Briggs, W. R., Huala, E. 1999. Blue-light photoreceptors in higher plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 15(1), 33-62.

- (7) Callejas, R., Kania, E., Contreras, A., Peppi, C., Morales, L. 2013. Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. *Idesia (Arica)*, 31(4): 19-26.
- (8) Canamero, R. C., Bakrim, N., Bouly, J. P., Garay, A., Dudkin, E. E., Habricot, Y., Ahmad, M. 2006. Cryptochrome photoreceptors cry1 and cry2 antagonistically regulate primary root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 224(5): 995-1003.
- (9) Chen, R., Baluska, F. 2013. Polar auxin transport. 1st edition. Springer.
- (10) Chen, L., Zhang, K., Gong, X., Wang, H., Gao, Y. H., Wang, X., Hu, Y. 2020. Effects of different LEDs light spectrum on the growth, leaf anatomy, and chloroplast ultrastructure of potato plantlets in vitro and minituber production after transplanting in the greenhouse. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1): 108-119.
- (11) Chinchilla, S., Izzo, L., van Santen, E., Gómez, C. 2018. Growth and Physiological Responses of Lettuce Grown under Pre-Dawn or End-Of-Day Sole-Source Light-Quality Treatments. *ScientiaHorticulturae*, 4(2):1- 8.
- (12) Cho, J. N., Ryu, J. Y., Jeong, Y. M., Park, J., Song, J. J., Amasino, R. M., Noh, Y. S. 2012. Control of seed germination by light-induced histone arginine demethylation activity. *Developmental Cell Biology*, 22(4): 736-748.
- (13) Christie, J. M. 2007. Phototropin blue-light receptors. *AnnualReview of Plant Biology*, 58(1): 21-45.
- (14) Christopher, D. A. 1996. Leaf development and phytochrome modulate the activation of psbD-psbC transcription by high-fluence blue light in barley chloroplasts. *Photosynthesis Research*, 47(3): 239-251.

- (15) Carrasco-Ríos, L. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *Idesia (Arica)*, 27(3): 59-76.
- (16) El-Esawi, M., Arthaut, L. D., Jourdan, N., d'Harlingue, A., Link, J., Martino, C. F., & Ahmad, M. (2017). Blue-light induced biosynthesis of ROS contributes to the signaling mechanism of *Arabidopsis* cryptochrome. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.
- (17) Frąszczak, B. 2013. Effect of short-term exposure to red and blue light on dill plants growth. *Horticultural Science*, 40(4): 177-185
- (18) Galvao, V. C., Fankhauser, C. 2015. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. *Current Opinion in Neurobiology*, 34: 46-53.
- (19) Hanyu, H., & Shoji, K. 2000. Acceleration of growth in spinach by short-term exposure to red and blue light at the beginning and at the end of the daily dark period. In *IV International ISHS Symposium on Artificial Lighting* 580 (pp. 145-150).
- (20) Hasan, M., Bashir, T., Ghosh, R., Lee, S. K., Bae, H. 2017. An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality. *Molecules*, 22(9): 1420.
- (21) Hepworth, C., Caine, R. S., Harrison, E. L., Sloan, J., & Gray, J. 2018. Stomatal development: focusing on the grasses. *Current Opinion in Plant Biology*, 41(1):1-7
- (22) Hiyama, A., Takemiya, A., Munemasa, S., Okuma, E., Sugiyama, N., Tada, Y., Shimazaki, K. 2017. Blue light and CO₂ signals converge to regulate light-induced stomatal opening. *Nature Communications*, 8(1): 1284.

- (23) Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van Leperen, W., Harbinson, J. 2010. Blue light dose–responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany*, 61(11): 3107-3117.
- (24) Huang, W., Ratkowsky, D. A., Hui, C., Wang, P., Su, J., Shi, P. 2019. Leaf fresh weight versus dry weight: which is better for describing the scaling relationship between leaf biomass and leaf area for broad-leaved plants?. *Forests*, 10(3): 256.
- (25) Huché-Thélier, L., Crespel, L., Le Gourrierec, J., Morel, P., Sakr, S., Leduc, N. 2016. Light signaling and plant responses to blue and UV radiations—Perspectives for applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany*, 121(1): 22-38.
- (26) Inoue, K., Araki, T., Endo, M. 2017. Integration of input signals into the gene network in the plant circadian clock. *Plant and Cell Physiology*, 58(6): 977-982.
- (27) Inoue, K., Nishihama, R., Kataoka, H., Hosaka, M., Manabe, R., Nomoto, M., Kohchi, T. 2016. Phytochrome signaling is mediated by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *The Plant Cell*, 28(6): 1406-1421.
- (28) Inoue, S. I., & Kinoshita, T. 2017. Blue light regulation of stomatal opening and the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiology*, 174(2), 531-538.

- (29) Jie, Zhao., ZHOU, J. J., WANG, Y. Y., GU, J. W., XIE, X. Z. 2013. Positive regulation of phytochrome B on chlorophyll biosynthesis and chloroplast development in rice. *Rice Science*, 20(4): 243-248.
- (30) Jishi, T., Kimura, K., Matsuda, R., Fujiwara, K. 2016. Effects of temporally shifted irradiation of blue and red LED light on lettuce growth and morphology. *Scientia Horticulturae*, 198(1): 227-232.
- (31) Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S. N., Yoshihara, T. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *Horticultura Science*, 45(12): 1809-1814.
- (32) Kim, H. B., Kwon, M., Ryu, H., Fujioka, S., Takatsuto, S., Yoshida, S., Choe, S. 2006. The regulation of DWARF4 expression is likely a critical mechanism in maintaining the homeostasis of bioactive brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 140(2): 548-557.
- (33) Kong, S. G., Okajima, K. 2016. Diverse photoreceptors and light responses in plants. *Journal of Plant Research*, 129(2): 111-114.
- (34) Kong, S. G., Wada, M. 2016. Molecular basis of chloroplast photorelocation movement. *Journal of Plant Research*, 129(2): 159-166.
- (35) Kozuka, T., Kong, S. G., Doi, M., Shimazaki, K. I., Nagatani, A. 2011. Tissue-autonomous promotion of palisade cell development by phototropin 2 in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 23(10): 3684-3695.
- (36) Kuno, Y., Shimizu, H., Nakashima, H., Miyasaka, J., & Ohdoi, K. 2017. Effects of irradiation patterns and light quality of red and blue light-emitting

- diodes on growth of leaf lettuce (*Lactuca sativa*L.“Greenwave”). *Environmental Control in Biology*, 55(3): 129-135
- (37) Li, H., Xu, Z., Tang, C. 2010. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 103(2): 155-163.
- (38) Li, Y., Xin, G., Liu, C., Shi, Q., Yang, F., Wei, M. 2020. Effects of red and blue light on leaf anatomy, CO₂ assimilation, and the photosynthetic electron transport capacity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. *Research Square*, doi: 10.21203/rs.2.24179/v3
- (39) Liu, J., Zhang, F., Zhou, J., Chen, F., Wang, B., Xie, X. 2012. Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *Plant Molecular Biology*, 78(3): 289-300.
- (40) Luque, R. Sousa, H. y Kraus, J. 1996. Métodos de coloración de Roesser, modificado e Kropp (1972) visando a substituicao do Azul de Alciao 86S ou 86X. *Acta Botanica Brasilica*. 10(1): 199-212
- (41) Meisel, L., Urbina, D., Pinto, M. 2011. Fotorreceptores y respuestas de plantas a señales lumínicas. *Fisiología vegetal*. Squeo Cardemil, F. A. (ed), Ediciones Universidad de La Serena, Chile.
- (42) Morrow, J., Willenburg, K. T., Liscum, E. 2018. Phototropism in land plants: Molecules and mechanism from light perception to response. *Frontiers in Biology*, 13(5): 342-357.
- (43) Mzoughi, Z., Chahdoura, H., Chakroun, Y., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., & Majdoub, H. 2019. Wild edible Swiss chard leaves (Beta

- vulgaris L. var. cicla): Nutritional, phytochemical composition and biological activities. *Food Research International*, 119, 612-621.
- (44) Nascimento, L. B., Leal-Costa, M. V., Coutinho, M. A., Moreira, N. D. S., Lage, C. L., Barbi, N. D. S., ... & Tavares, E. S. (2013). Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of Kalanchoe pinnata (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. *Photochemistry and photobiology*, 89(2), 391-399.
- (45) Paik, I., & Huq, E. 2019. Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 92(1), 114-121
- (46) Park, E., Kim, Y., & Choi, G. 2018. Phytochrome B requires PIF degradation and sequestration to induce light responses across a wide range of light conditions. *The Plant Cell*, 30(6), 1277-1292.
- (47) Pham, V. N., Kathare, P. K., & Huq, E. 2018. Phytochromes and phytochrome interacting factors. *Plant Physiology*, 176(2), 1025-1038.
- (48) Raman, R. 2017. The impact of genetically modified (GM) crops in modern agriculture: A review. *GM crops & food*, 8(4), 195-208.
- (49) Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C., Foley, J. A. 2013. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. *PloS one*, 8(6): e66428, doi: 10.1371/journal.pone.0066428
- (50) Sapala, A., Runions, A., Smith, R. S. 2019. Mechanics, geometry and genetics of epidermal cell shape regulation: different pieces of the same puzzle. *Current Opinion in Plant Biology*, 47(1): 1-8.

- (51) Shin, K. S., Murthy, H. N., Heo, J. W., Hahn, E. J., Paek, K. Y. 2008. The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(3): 339-343.
- (52) Sakaguchi, J., Matsushita, T., Watanabe, Y. 2019. DWARF4 accumulation in root tips is enhanced via blue light perception by cryptochromes. *Plant, Cell & Environment*, 42(5): 1615-1629.
- (53) Silvestri, C., Caceres, M. E., Ceccarelli, M., Pica, A. L., Rugini, E., Cristofori, V. 2019. Influence of Continuous Spectrum Light on Morphological Traits and Leaf Anatomy of Hazelnut Plantlets. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1318. doi: 0.3389/fpls.2019.01318
- (54) Soria-Proaño, F. A. 2015. *Comportamiento agronómico de las hortalizas acelga (Beta vulgaris) y brócoli (Brassica oleracea) con dos abonos orgánicos en el Centro Experimental “La Playita”- UTC 2013. Tesis de pregrado.* Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga, Ecuador.
- (55) Straus, S., Bavec, F., Turinek, M., Slatnar, A., Rozman, C., Bavec, M. 2012. Nutritional value and economic feasibility of red beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel) from different production systems. *African Journal of Agricultural Research*, 7(42): 5653-5660.
- (56) Sullivan, S., Hart, J. E., Rasch, P., Walker, C. H., Christie, J. M. 2016. Phytochrome A mediates blue-light enhancement of second-positive phototropism in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 290. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00290>
- (57) Sung, I. K., Takano, T. 1997. Effects of supplemental blue-and red-lights in the morning twilight on the growth and physiological responses of cucumber

- [*Cucumis sativus*] seedlings. *Environment Control in Biology (Japan)*. 35(4): 261-265
- (58) Sung, I. K., Kiyota, M., Hirano, T. 1998. The effects of time and intensity of supplemental blue lighting during morning twilight on growth and physiological performance of cucumber seedlings. *Life Support & Biosphere Science*, 5(2): 137-142.
- (59) Taiz, L., Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. 3rd edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- (60) Tanaka, M., Takamura, T., Watanabe, H., Endo, M., Yanagi, T., Okamoto, K. 1998. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(1): 39-44.
- (61) Tripathi, S., Hoang, Q. T., Han, Y. J., & Kim, J. I. (2019). Regulation of Photomorphogenic Development by Plant Phytochromes. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24), 6165.
- (62) Thum, K. E., Kim, M., Christopher, D. A., & Mullet, J. E. 2001. Cryptochrome 1, cryptochrome 2, and phytochrome A co-activate the chloroplast psbD blue light-responsive promoter. *The Plant Cell*, 13(12): 2747-2760.
- (63) Troels, M. 2016. Flora del Paraguay, Amaranthaceae. Ginebra, Suiza. Editions des Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Geneve.
- (64) Ube, R. 2014. *Adaptación y comportamiento agronómico de dos variedades de acelga (*Beta vulgaris*), sembradas mediante sistema hidropónico de raíz*

- flotante, en la zona de Babahoyo.* Tesis doctoral. Universidad Técnica de Babahoyo. Babahoyo, Ecuador.
- (65) Uemoto K., Araki T., Endo M. 2018. Isolation of Arabidopsis Palisade and Spongy Mesophyll Cells. In: Yamaguchi N. (eds) Plant Transcription Factors. Methods in Molecular Biology, vol 1830. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8657-6_9
- (66) United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division 2019. World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423). Recuperado de: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_HIGHLIGHTS.pdf.
- (67) Victorio, C. P., Leal-Costa, M. V., Schwartz Tavares, E., Machado Kuster, R., Salgueiro-Lage, C. L. 2011. Effects of supplemental UV-A on the development, anatomy and metabolite production of *Phyllanthus tenellus* cultured *in vitro*. *Photochemistry and photobiology*, 87(3): 685-689.
- (68) Volkenburgh, E. V. 1999. Leaf expansion an integrating plant behaviour. *Plant, Cell & Environment*, 22(12): 1463-1473.
- (69) Wang, H., Wang, H. 2015. Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends. *Molecular Plant*, 8(4): 540-551.
- (70) Wang, X. Y., Xu, X. M., & Cui, J. 2015. The importance of blue light for leaf area expansion, development of photosynthetic apparatus, and chloroplast ultrastructure of *Cucumis sativus* grown under weak light. *Photosynthetica*, 53(2): 213-222.

- (71) Wei, H., Kong, D., Yang, J., Wang, H. 2020. Light Regulation of Stomatal Development and Patterning: Shifting the Paradigm from *Arabidopsis* to Grasses. *Plant Communications*, 1(2): 100030, doi: 10.1016/j.xplc.2020.100030
- (72) Ying, L., Shi-Rong, G., Zhi-Gang, X., Xue-Lei, J., Tezuka, T. 2011. Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stomata of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes. *Horticultural Science*, 46(2): 217-221.
- (73) Xu, F., He, S., Zhang, J., Mao, Z., Wang, W., Li, T., Lian, H. 2018. Photoactivated CRY1 and phyB interact directly with AUX/IAA proteins to inhibit auxin signaling in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 11(4): 523-541.
- (74) Yoo, C. Y., Pasoreck, E. K., Wang, H., Cao, J., Blaha, G. M., Weigel, D., Chen, M. 2019. Phytochrome activates the plastid-encoded RNA polymerase for chloroplast biogenesis via nucleus-to-plastid signaling. *Nature communications*, 10(1): 1-16.
- (75) Zhang, Q., Peng, S., Li, Y. 2019. Increase rate of light-induced stomatal conductance is related to stomatal size in the genus *Oryza*. *Journal of Experimental Botany*, 70(19): 5259-5269.
- (76) Zheng, L., Van Labeke, M. C. 2017. Long-term effects of red-and blue-light emitting diodes on leaf anatomy and photosynthetic efficiency of three ornamental pot plants. *Frontiers in Plant Science*, (8): 917-919.

APÉNDICE

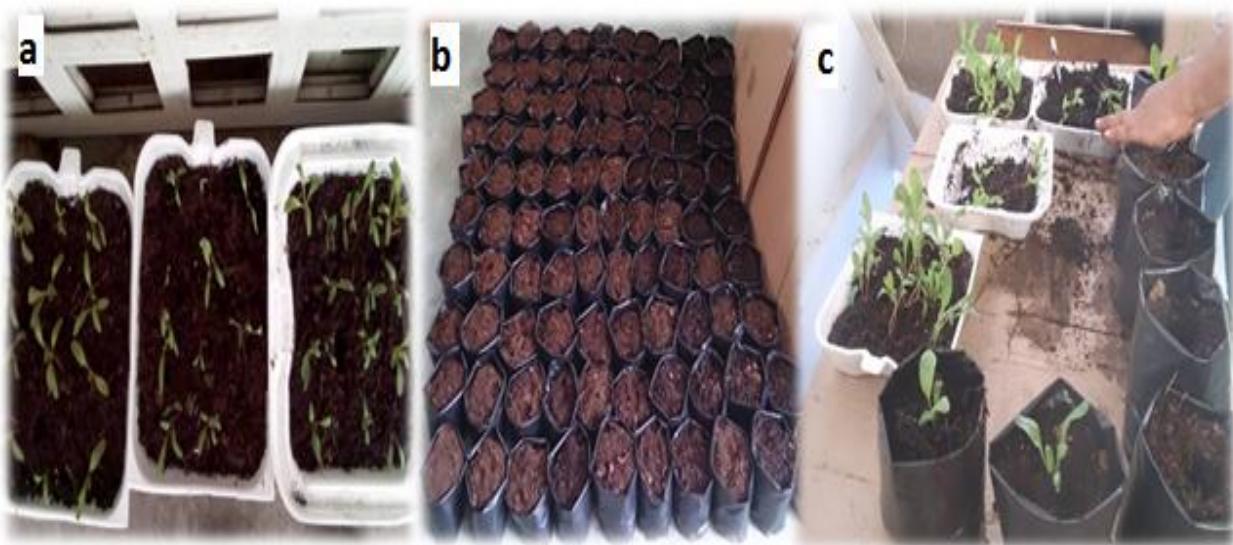


Figura 18. a. Proceso de germinación de semillas en bandejas de poliestireno b. Bolsas plásticas con el sustrato c. Proceso de trasplante desde las bandejas de poliestireno hacia las bolsas plásticas.



Figura 19. Proceso de crecimiento de las plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* antes de comenzar los tratamientos LEDs.



Figura 20. a. Plantas de *Beta vulgaris* L var. *cicla* etiquetadas para los diferentes tratamientos LEDs. b. Plantas irradiadas por luz led azul c. Plantas irradiadas por luz led roja.

www.bdigital.ula.ve