

UNIVERSIDAD ADOLFO IBÁÑEZ

TESIS DE MAGÍSTER

**EVALUACIÓN DE LOS POTENCIALES EFECTOS DE LA
RADIACIÓN IONIZANTE A BAJAS DOSIS COMO PRE-
ACONDICIONAMIENTO EN PLANTAS DE *ARABIDOPSIS*
THALIANA EXPUESTAS A ESTRÉS ABIÓTICO**

Autor:

CONSTANZA SEPÚLVEDA
HERNÁNDEZ

Profesores guía:

MARÍA JOSEFINA POUPIN
DANIEL VILLEGAS

*Tesis realizada acorde a los requerimientos para el grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería
y para la doble titulación de Ingeniería Civil en Bioingeniería e Ingeniería Civil Industrial de la*

Facultad de Ingeniería y Ciencias

Enero 2023



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mis profesores por la dedicación, el apoyo, la disposición y la orientación. A la Dra. María Josefina Poupin por enseñarme el mundo de las plantas y aceptarme en su lindo grupo de trabajo; y al Dr. Daniel Villegas, por adentrarme al desconocido mundo de la radiación. Agradezco cada una de sus sugerencias, comentarios y toda la ayuda otorgada tanto a mí como a la investigación. Gracias por la confianza depositada en mí.

En segundo lugar, a todos los que hicieron que mi paso por el laboratorio hayan sido lindos recuerdos que conservaré con mucho cariño. A mi querido grupo MJP; que me enseñó lo bonito de trabajar en un ambiente sano, contenedor, respetuoso, empático y creativo. Gracias a todas y todos por su ayuda, apoyo, tiempo y dedicación. Por sus lindos consejos, por el tiempo compartido, por las risas y por supuesto, por los abrazos contenedores. Gracias a todos por ayudarme a crecer y brillar.

Finalmente, y no menos importante, a mi adorada mi familia. A mis padres, por todo lo que han sacrificado por mí; y a mi adorado hermano por soportarme y quererme tanto. Muchas gracias por los valores y enseñanzas que siempre me han entregado, por apoyar mis decisiones, por darme espacio y por inspirarme a ser una mejor persona. A mis abuelos, tíos y primos por todo el cariño, amor y soporte que me entregan día a día. Gracias a cada una de estas personas por siempre estar conmigo y ser mi soporte tanto emocional como personal... aunque no sepan el nombre de la carrera que estudie ni comprendan del todo mi investigación. Una mención honrosa a mis bestias peludas, pues con tan solo ver sus constantes colitas en movimiento y 6,5 pares de ojitos, me alegran el corazón.

Este trabajo de investigación se llevó a cabo gracias a los siguientes proyectos por su financiamiento: Fondecyt 1190634; al Centro de Ecología Aplicada y Sustentabilidad (CAPES; ANID PIA/BASAL FB0002); al Núcleo Milenio para el Desarrollo de Plantas Súper Adaptables (MN-SAP; ANID-Millennium Science Initiative Program-NCN2021_010); ANID-PAI 7818I20007; ANID PIA/ANILLOS ACT210052.

UNIVERSIDAD ADOLFO IBÁÑEZ

RESUMEN

Facultad de Ingeniería y Ciencias

Magíster en Ciencias de la Ingeniería y para la doble titulación de Ingeniería Civil en Bioingeniería
e Ingeniería Civil Industrial

EVALUACIÓN DE LOS POTENCIALES EFECTOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE A BAJAS DOSIS COMO PRIMING EN PLANTAS DE *ARABIDOPSIS THALIANA* EXPUESTAS A ESTRÉS ABIÓTICO por Constanza Sepúlveda Hernández

Las plantas son organismos sésiles capaces de adaptarse y responder a factores de estrés ambiental. El *priming* o precondicionamiento es un proceso donde una primera exposición a un estrés ambiental no severo y de bajo nivel induce respuestas más efectivas en un organismo que se enfrente a un desafío ambiental más severo en la posterioridad. El conocimiento actual de los efectos de la radiación ionizante (RI) sugiere que una exposición a dosis bajas puede inducir una respuesta adaptativa que preconditiona a las plantas para responder favorablemente frente a otros estresores abióticos. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de la radiación ionizante a bajas dosis en la respuesta adaptativa de plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a ambientes estresantes. Para ello, tres materiales vegetales diferentes con diferentes tratamientos de pre-irradiación (semillas secas, semillas embebidas y plántulas) fueron expuestos a dosis crecientes de IR (*gray* o Gy) para definir las dosis de estimulación en IR. Estos resultados preliminares determinaron que la zona de radio-estimulación que podría generar efectos benéficos serían dosis inferiores a 40 Gy en *A. thaliana*. Posteriormente, las plantas expuestas a dosis crecientes hasta 40 Gy fueron expuestas a condiciones de control (sin estrés), estrés salino leve, estrés salino severo, estrés térmico leve y estrés térmico severo. Finalmente, se analizaron diferentes parámetros de crecimiento en las plantas de los distintos tratamientos. Los resultados sugieren que la irradiación de semillas y plántulas de *A. thaliana* a dosis inferiores a 5 Gy protege a las plantas, contribuyendo a su tolerancia a otros estreses, particularmente en semillas hidratadas que luego se expusieron a estrés salino. Por otra parte, el estrés por calor no fue lo suficientemente severo en las plantas no estresadas. Los efectos beneficiosos de las dosis bajas de IR también se observaron en condiciones de control. Por esto, nuestros resultados sugieren que las dosis bajas de IR podrían utilizarse en semillas como método de *priming* para inducir la tolerancia al estrés salino en *A. thaliana*, así como también para promover el crecimiento de las plantas en condiciones normales de crecimiento. Estos resultados son promisorios y estimulan la posibilidad de evaluar si los efectos benéficos observados de dosis bajas de IR también se observan en plantas de interés comercial, lo que abriría una opción de aplicación tecnológica de este tipo de radiación en el campo de la agricultura.

Palabras clave: *Arabidopsis thaliana*, *priming*, hormesis, radiación ionizante.

ÍNDICE

I. PROBLEMA U OPORTUNIDAD.....	5
II. INTRODUCCIÓN	7
El cambio climático y las plantas	7
Respuestas adaptativas de plantas a estrés	8
Lo que no mata, fortalece.....	9
Radiación Ionizante.....	11
Efecto de la Radiación Ionizante en plantas	13
Hormesis por Radiación Ionizante.....	15
III. HIPÓTESIS, OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
Materiales vegetales.....	19
Lugar de estudio	19
Exposición de radiación ionizante dosificada	20
Exposición a ambientes estresantes.....	22
Análisis estadístico.....	25
V. RESULTADOS OBTENIDOS	25
Objetivos 1 y 2.....	25
Efecto de la radiación ionizante en la germinación.....	25
Efecto de la radiación ionizante en roseta y raíz	26
Efecto de la radiación ionizante en la eficiencia máxima del fotosistema II.....	31
Objetivos 3 y 4.....	32
Efecto del radio-priming en el área de roseta.....	32
Efecto del radio-priming en la longitud de la raíz.....	38
Efecto del radio-priming en la eficiencia máxima del fotosistema II	44
VI. DISCUSIÓN	49
Objetivos 1 y 2.....	49
Contenido de Agua	50
Germinación	51
Crecimiento.....	51
Fluorescencia de la Clorofila.....	53
Objetivos 3 y 4.....	54
Efecto de la radiación en otros factores abióticos	54
VII. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES	57
VIII. ANEXOS.....	59
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	68

I. PROBLEMA U OPORTUNIDAD

A fin de promover un desarrollo sostenible en el mundo, la Organización de Naciones Unidas (ONU) impulsó la Agenda 2030 para Desarrollo Sostenible en 2015. Esta iniciativa postula 17 objetivos de desarrollo sostenible (ODS) dentro de los cuales, se destaca la necesidad de adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático (Naidoo y Fisher, 2020). La variación del sistema climático global, junto con el aumento de las temperaturas medias y la alteración de la composición de la atmósfera, han convertido al cambio climático en una de las mayores amenazas mundiales en materia ambiental, económica, política y social que ha enfrentado la humanidad en el último tiempo (Anderson y Song, 2020). Actualmente, existe pleno consenso científico en que estamos evidenciando un aceleramiento en el cambio climático producto de actividades antropogénicas (Anderson et al., 2020; Anderson y Song, 2020; Thuiller, 2007). Desde la Revolución Industrial a mediados del siglo XVIII, la presencia de gases de efecto invernadero (GEI) ha ido aumentando progresivamente, siendo el dióxido de carbono atmosférico (CO₂) uno de los gases que presenta mayor crecimiento en su concentración con un 45% hasta la fecha (Ciais et al., 2013). En concreto, este aumento en los GEI ha alterado la atmósfera al punto de incrementar la temperatura global media en 1,41°C, desencadenado el aumento del número de días y noches cálidas, así como la frecuencia y la severidad de sucesos climáticos extremos (Anderson et al., 2020; Dusenge et al., 2018; Spinoni et al., 2019).

El cambio climático es un problema que afecta al planeta en conjunto, pero ciertos países son más propensos a sufrir mayores estragos debido a los llamados “factores de vulnerabilidad” representados por exposición geográfica, ingresos y su capacidad limitada de adaptación a condiciones climáticas (Stern, 2007). Según el Plan de Acción Nacional de Cambio Climático 2017-2022 publicado por el Ministerio del Medio Ambiente, Chile es un país altamente vulnerable a la crisis climática tras cumplir con 7 de las 9 condiciones impuestas por la ONU. Todo esto a pesar de tan solo contribuir con el 0,25% de las emisiones globales de efecto invernadero (Aguirre et al., 2019; Ministerio del Medio Ambiente, 2017). Lo anterior se debe en parte a su geografía, sus altos índices de contaminación atmosférica urbana, la inequidad de ingresos y la dependencia de la agricultura (Anderson et al., 2020; Pinto, 2019). El panorama nacional actual estima que el 25% del Producto Interno Bruto (PIB) se encuentra altamente expuesto a los riesgos del cambio climático (Banco Central de Chile, 2019). Junto con esto, la reaseguradora Swiss Re alertó que Chile podría perder hasta un 28% de su PIB producto de la crisis climática, lo que equivale a 5 veces las pérdidas producidas por la pandemia de COVID-19 (Swiss Re, 2021). Uno de los sectores productivos nacionales más afectados por el cambio climático es la agricultura, evidenciando limitaciones en el rendimiento y la productividad que amenazan con disminuir la calidad del producto final que será

entregado al cliente (Agathokleous y Calabrese, 2019; Ainsworth, 2016). En las últimas dos décadas, las altas temperaturas y salinidad han obligado a los agricultores a desplazar sus cultivos hacia el sur del país y reducir la superficie de siembra dedicada a cereales y legumbres (ODEPA, 2017; Rojas, 2013; Universidad de Chile; 2018). Esto ha generado cambios en la producción, calidad de productos y en los ingresos netos, puesto que se estima que entre las regiones de Coquimbo y el Biobío, la caída productiva puede llegar al 20% en el valle central, pero con un aumento en el rendimiento de 50% en la costa y precordillera (Rojas, 2013).

Por décadas, la aplicación de energía nuclear ha sido una herramienta para generar cultivos con mayores rendimientos donde, por ejemplo, el uso de radiación ionizante como agente mutagénico ha logrado desarrollar nuevas variedades con comportamientos mejorados ante fenómenos del cambio climático como sequías, altas temperaturas e inundaciones (De los Santos, 2021). Además, se ha logrado dar soluciones a problemáticas relacionadas con la conservación de alimentos, el control de contaminantes, enfermedades y plagas, la fertilidad de suelos, la eficiencia de nutrientes, la racionalización de agua (Mera, 2015; IAEA, 2017). Una aplicación menos conocida es la radio-hormesis, basada en la hipótesis de que bajas dosis de radiación ionizante son benéficas, estimulando reservas de mecanismos hipotéticos de reparación que protegen contra enfermedades, anulando los efectos nocivos de la radiación ionizante adicional y protegiendo contra otros tipos de daños ambientales (Luckey, 2006). Se ha descrito que la radio-hormesis en plantas promueve la respiración celular, la activación enzimática, el desarrollo de una maduración temprana y el crecimiento (Luckey, 1980; Luckey, 2019; Luckey 2020). A pesar de que las primeras investigaciones de radio-hormesis datan de hace más de sesenta años, el efecto radio-estimulador de las bajas dosis de IR es aún poco conocido debido a que durante años no se registraron avances significativos en esta línea de investigación (Vergara et al., 2018). No obstante, en la última década, se ha retomado el interés de estudiar los efectos de la radiación ionizante a bajas dosis, en particular, porque se ha revelado que la radio-hormesis es capaz de incrementar en un 10 a 40%, los rendimientos agrícolas por mejoramiento de semillas irradiadas resistentes a enfermedades y factores abióticos (González et al., 2002).

Lo anterior releva la necesidad de ampliar la mirada investigativa a las herramientas tecnológicas existentes para enfrentar la amenaza de la crisis climática y mejorar la adaptabilidad de las plantas frente a factores ambientales estresantes. Para esto, se propone profundizar el entendimiento de la radiación ionizante a bajas dosis con el propósito de generar resultados que permitan abrir debate sobre nuevas formas de diseñar estrategias de investigación inspiradas en el contexto actual.

II. INTRODUCCIÓN

El cambio climático y las plantas

Las plantas poseen diversos mecanismos de adaptación, directos o indirectos, que les permiten sobrevivir a los cambios en el medio ambiente por medio de respuestas adaptativas que las protegen de la desaparición de sus especies (Anderson y Song, 2020; Christmas, Breed y Lowe, 2016). Considerando las persistentes y cada vez más graves consecuencias del cambio climático, resulta crucial investigar cómo las poblaciones vegetales responden a estos entornos (Anderson y Song, 2020). Por esto, se definen tres objetivos fundamentales para la adaptación de individuos al cambio climático: la capacidad de respuesta eficaz al estrés, el aumento de la resiliencia y la reducción de la vulnerabilidad (Owen, 2020). Respecto a esto, las diversas disciplinas científicas que estudian el efecto del estrés señalan que cualquier factor físico, químico o biológico puede ser un potencial factor de estrés para la supervivencia de un organismo (Bhattacharya y Rattan, 2019). No obstante, el nivel de estrés dependerá del tipo, severidad y duración de exposición del estímulo para que se desencadene una respuesta beneficiosa o dañina (Bhattacharya y Rattan, 2019; Kozumbo y Calabrese, 2019). En general, los factores de estrés pueden ser clasificados en bióticos o abióticos. Dentro de los primeros se incluyen enfermedades y patógenos, mientras que los segundos abarcan desde contaminantes ambientales hasta factores climáticos (Bhattacharya y Rattan, 2019). Dentro de los contaminantes ambientales, se incluyen productos derivados de las actividades antropogénicas como sustancias químicas de origen natural o sintético, mientras que los factores climáticos son cualquier cambio que afecte directamente las condiciones necesarias de crecimiento de la planta como la temperatura, salinidad, disponibilidad hídrica y la luz (Agathokleous et al., 2019). El estrés abiótico producido por estos factores climáticos representa un 50% de las pérdidas mundiales en cultivos del sector agrícola debido a alteraciones en los procesos fisiológicos y metabólicos en las plantas (Méndez-Espinoza y Vallejo, 2019).

Dos ejemplos de factores de estrés abióticos son la salinidad y las altas temperaturas. La salinidad es uno de los factores abióticos más relevantes para los organismos vegetales, pues se estima que un 20% de las zonas irrigadas del mundo presentan este problema en sus suelos (Lucero et al., 2017). Una de las causas principales de la salinidad es la sequía, que reduce los niveles de agua en el suelo, concentrando las sales presentes y alterando el intercambio iónico de las plantas con su medio de crecimiento (Tester y Davenport, 2003). Esto provoca una disminución en la disponibilidad de agua que altera el potencial hídrico de la planta al reducir la absorción de agua por efecto osmótico (Isayenkov y Maathuis, 2019). Se ha reportado que las altas concentraciones salinas en plantas producen alteraciones en los tejidos vegetales e inhibiciones metabólicas que afectan la síntesis de

proteínas, lípidos y al proceso de la fotosíntesis, lo cual se traduce en reducción en el desarrollo de los cultivos y reducción en los rendimientos (Tester y Davenport, 2003). Asimismo, la exposición a estrés salino desencadena la síntesis y acumulación de especies reactivas del oxígeno conocidas como ROS, de las cuales se destacan el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales de superóxido (O_2^-) y los radicales de hidroxilos como parte de la estrategia de defensa de la planta frente al estrés (Azcón-Bieto et al., 2000). El impacto de la acumulación de sales en la agricultura nacional queda reflejado en que, del total de la superficie agrícola del país, aproximadamente un 76% está siendo afectado en mayor o menor medida por la sequía, lo que a su vez es una de las principales de salinidad (Fernández, 2019; Ministerio del Medio Ambiente, 2021). En concreto, según el “Escaneo de salinidad en Chile: desafíos y oportunidades para la sustentabilidad”, hay 76 millones de hectáreas afectadas por altos contenidos de sodio, carbonatos y bicarbonatos, donde cerca de la mitad son considerados como suelos salinos (The Salt Doctors et al., 2022)

En el siglo pasado, la temperatura promedio mundial aumentó en $0,6^{\circ}C$ respecto a los niveles preindustriales (Sánchez, 2022). Si se considera desde año 2000 hasta la actualidad, el incremento acumulado de la temperatura ha sido de $1^{\circ}C$ y, aun así, se espera que la temperatura siga aumentando por sobre $2^{\circ}C$ para el año 2050 (Sánchez, 2022). El impacto de las altas temperaturas sobre la productividad agrícola ha sido relevante, ya que todos los cultivos tienen un rango óptimo de temperatura que regula los procesos de crecimiento y desarrollo, por lo que, si un organismo vegetal es expuesto a una temperatura superior a este rango, se produce estrés (Bellagio, 2019; Cara, 2021; Sánchez, 2022). El estrés por calor afecta a las células a través de alteraciones en la estructura del ADN y membranas, la desnaturalización de proteínas y enzimas, la generación excesiva de ROS y la inhibición en la actividad fotosintética por reprogramación metabólica de cloroplastos y descomposición de la clorofila (Bellagio, 2019; Chaki et al., 2011; Rizhsky, 2002; Wang, 2018). Respecto al panorama chileno, la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA) señala que el sector productivo más afectado ha sido el frutícola, pues ha tenido que desplazarse hacia el sur buscando ambientes óptimos de cultivo (Aguirre et al., 2019). Cabe mencionar, que el sector silvoagropecuario chileno tiene una participación en la economía que promedia el 3% del PIB, siendo los rubros más contribuyentes la fruticultura (33%) y la agricultura de cultivos anuales y hortalizas (22%) (Aguirre et al., 2019).

Respuestas adaptativas de plantas a estrés

A nivel vegetal, la generación de respuestas adaptativas puede entenderse por la existencia de grandes flujos genéticos (Anderson y Song, 2020). De esta forma, las plantas tienen la capacidad de adaptarse

por medio de rasgos heredados mediante la introducción de alelos pre-adaptados o aparición de mutaciones (Christmas et al., 2016). No obstante, la forma natural de la aparición de estas respuestas adaptativas no es inmediata porque, por lo general, son consecuencia de cúmulos multigeneracionales de rasgos (Laanen et al., 2021). La aparición de rasgos adaptativos heredables se atribuye a cambios en la secuencia del ADN, las propiedades de la cromatina y la biogénesis de micro-ARN (miARN) que contribuyen tanto en la regulación transcripcional como la postranscripcional de la expresión génica (Mirouze y Paszkowski, 2011; Wolters y Jürgens, 2009). Sin embargo, no todos los cambios adaptativos se relacionan exclusivamente a variaciones a nivel genético, pues la exposición a factores estresantes también puede modificar el epigenoma. Los efectos epigenéticos corresponden a características fenotípicas heredables causadas por marcas capaces de alterar la forma en que los genes se expresan (Caplin y Willey, 2018; Hitchler y Domann, 2021). Con relación a esto, existen dos tipos de modificaciones: la metilación del ADN, la cual afecta la expresión genética; y las modificaciones en las histonas, que se asocian al control y empaquetamiento del ADN (Laanen et al., 2021).

Además de estas adaptaciones genéticas, existe otra manera en que los sistemas biológicos se adaptan a los agentes estresores. Hay vías bioquímicas que actúan de forma inmediata o retrasada, permitiendo una respuesta adaptativa en los organismos frente a su entorno (Bhattacharya y Rattan, 2019; Agathokleous, Kitao y Calabrese, 2019). Esta capacidad, conocida como plasticidad fenotípica, es capaz de amortiguar el impacto de las condiciones cambiantes dentro de un entorno a través de la codificación de características que resultan en una variedad de fenotipos (Christmas et al., 2016). En el caso de las plantas, las señales ambientales son percibidas y transmitidas a través de reacciones químicas que desencadenan la activación de genes que codifican proteínas como una estrategia evolutiva-biológica que promueve el crecimiento, desarrollo y el mantenimiento de la homeostasis (Agathokleous y Calabrese, 2019; Jalal et al., 2021).

Lo que no mata, fortalece: Hormesis

Dentro del área de la tolerancia ambiental, el concepto de hormesis explica que todos los organismos tienen un estrés basal, que puede ser utilizado como método de evaluación para describir la relación entre la respuesta de un individuo y la concentración de un agente estresor en un medio (Jalal et al., 2021). La hormesis es un proceso que depende de la concentración de un factor estresante para inducir la generación de una respuesta adaptativa en un individuo (Agathokleous, 2018; Jalal et al., 2021). En otras palabras, se estimula una respuesta adaptativa beneficiosa cuando el agente estresor se encuentra en dosis bajas, pero si la concentración del estresor es alta, esta respuesta se inhibe

(Agathokleous et al., 2019; Jalal et al., 2021; Jin et al., 2020; López et al., 2013; Schirmacher, 2021). Como se muestra en la Figura 1, dentro del rango de dosis bajas, la zona hormética se caracteriza por tener la máxima respuesta estimuladora e inducir respuestas adaptativas (Agathokleous et al., 2019). En organismos vegetales, esto se logra a través de una serie de procesos biológicos que ayudan a mantener la homeostasis, tales como: la activación de procesos de señalización y reparación celular, producción de especies reactivas de oxígeno y antioxidantes, regulación de muerte celular y fotosintética, y la emisión de compuestos orgánicos volátiles (Agathokleous et al., 2019; Brito et al., 2018; Drzeżdżon et al., 2018; Mittler, 2017; Moustakas et al., 2019; Savvides et al., 2016; Tanou et al., 2012).

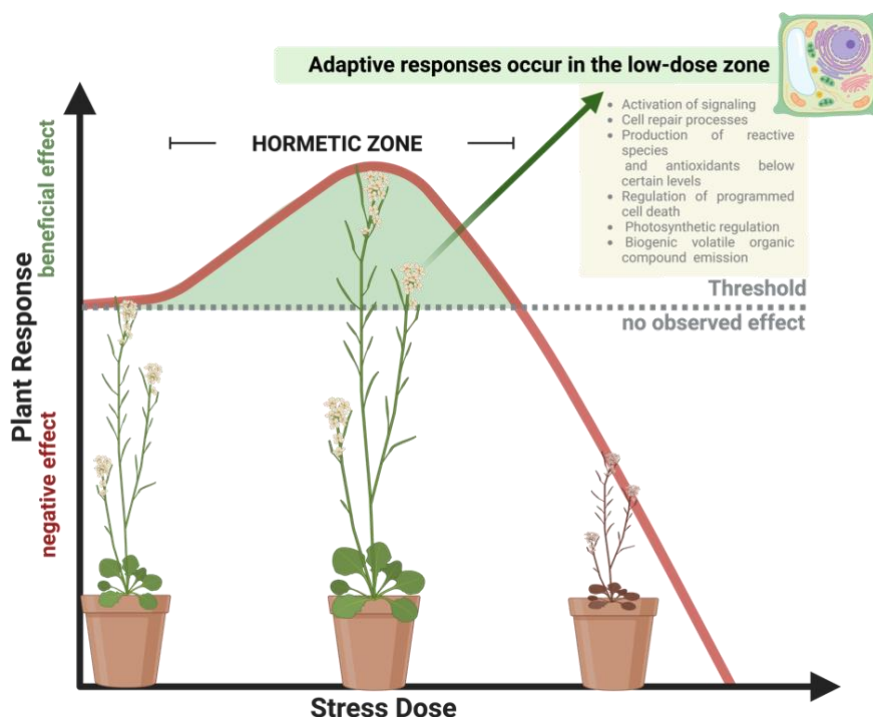


Figura 1. Respuesta en la planta a los estímulos ambientales según el modelo hormético. La hormesis se define como una relación dosis-respuesta que genera una estimulación beneficiosa para el organismo cuando la exposición al estrés es baja (zona hormética), no obstante, se genera el efecto contrario a medida que la dosis del estrés aumenta. Elaboración propia, creada con BioRender.com

Lo interesante del concepto de hormesis es que es un estudio generalizado de la relación dosis-respuesta independiente del individuo de estudio y factor estresor (Calabrese y Agathokleous, 2021). Por ejemplo, el concepto *priming* o pre-acondicionamiento es una manifestación de la zona estimulante de la hormesis que ha logrado mejorar la tolerancia en las plantas frente a desafíos ambientales (Antoniou, 2016). La teoría detrás del *priming* sugiere que la exposición a un estrés de

bajas dosis es capaz de activar mecanismos de tolerancia en las plantas que le permiten protegerse contra un estrés posterior de más alto nivel (Agathokleous et al., 2019; Tanou et al., 2012). Otros ejemplos sobre las aplicaciones de la hormesis en plantas son los herbicidas y los bioestimulantes. Los herbicidas se emplean para controlar y eliminar diferentes poblaciones de plantas mediante el bloqueo de procesos bioquímicos y fisiológicos esenciales como el ciclo celular, la formación de proteínas y la fotosíntesis. Sin embargo, también se utilizan los herbicidas en dosis bajas para modular el crecimiento, composición y fisiología de los organismos vegetales (Jalal et al., 2021). El ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), el glifosato y el paraquat son algunos herbicidas que en bajas concentraciones inducen el crecimiento de las plantas (Islam et al., 2017). En particular, la hormesis de 2,4-D mejora el metabolismo de los ácidos nucleicos, la plasticidad de la pared celular, la división celular e induce el crecimiento celular a través de la producción de fitohormonas como la auxina (Grossman, 2010; Islam et al., 2017). Las bajas dosis de glifosato en plantas estimulan la asimilación de CO₂, el transporte de los electrones en el fotosistema y la conductividad estomática (Jalal et al., 2021; Silva et al., 2016). Finalmente, la aplicación de paraquat en bajas concentraciones aumenta la defensa antioxidante y reduce la producción de ROS (Hosamani y Muralidhara, 2013).

De la misma manera, los bioestimulantes impulsan el crecimiento de las plantas y los procesos tanto fisiológicos como bioquímicos, mejorando la tolerancia a las condiciones ambientales. El mecanismo de acción se basa en el funcionamiento de compuestos naturales llamados inductores, los cuales regulan los sistemas de defensa de las plantas para fortalecer la estructura celular y reducir la formación de ROS (Jalal et al., 2021). La aplicación de los bioestimulantes induce al desarrollo de las plantas mediante la activación de metabolitos secundarios y la expresión de genes como respuesta al estrés oxidativo que promueve la planta como mecanismo de defensa (Esnault et al., 2010). Generalmente, los bioestimulantes son microorganismos, carbohidratos, lípidos o hidrolizados de proteínas como la lignina (Thakur y Sohal, 2013). La lignina está relacionada con la integridad vascular de la planta y el mejoramiento de la tolerancia al estrés biótico y abiótico, más aún si este metabolismo se concentra en las raíces (Nguyen et al., 2016; Yoshimura et al., 2008).

Radiación Ionizante

La vida en el planeta tierra implica una constante exposición a radiación ionizante, la cual puede provenir de fuentes naturales como el suelo y el espacio exterior; o de fuentes artificiales utilizadas en la industria o en áreas de investigación (IAEA, 2022). Según el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA en inglés), la radiación ionizante (IR) puede definirse como la emisión, propagación y transferencia de energía en forma de ondas electromagnéticas (rayos gamma o X) o

partículas (partículas alfa, beta o neutrones). La radiación ionizante es capaz de interactuar con la materia mediante el proceso de ionización, el cual consiste en la producción de iones tanto en átomos como en moléculas (IAEA, 2022). En el sistema internacional de unidades, la cuantificación de la energía depositada o absorbida en una unidad de masa se conoce como dosis y se mide en *gray* (Gy; $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J} \cdot \text{Kg}^{-1}$) (Ramos y Villarreal, 2007). Generalmente, se confunde conceptualmente a la irradiación con la contaminación radioactiva, la cual hace referencia a la presencia de radiación no deseada en la superficie o en el interior de un objeto u organismo. Por otro lado, el concepto de irradiación (o exposición) se refiere a la acción de someter un objeto u organismo a una fuente externa de radiación durante un tiempo determinado (Mera, 2015). La exposición a radiación en un período breve de tiempo recibe el nombre de irradiación aguda, por el contrario, la irradiación crónica es la exposición a radiación en un período largo de tiempo (Jiménez, 2004). Por lo general, en la irradiación aguda se utilizan dosis altas y en la irradiación crónica se usan dosis moderadas-bajas. Cabe mencionar, que existen tres factores que permiten reducir la tasa de exposición: la distancia, ya que la dosis suele disminuir con el cuadrado de la distancia en la que se encuentra la fuente de radiación; el tiempo, pues la dosis equivalente recibida disminuye conforme al tiempo de exposición; y el blindaje, porque la IR pierde intensidad al atravesar la materia, por lo que dependerá de la naturaleza de la IR, la energía de la IR, el material absorbente y si se trata de una exposición a fuente abierta o cerrada (Ramos y Villarreal, 2007).

El mejoramiento genético por inducción de rayos gamma es un ejemplo de aplicación que ha prevalecido por más de 80 años como una técnica de generación de cultivos (IAEA, 2016; IAEA, 2022). Además, es considerada la técnica más segura, sencilla y económicamente eficaz para promover variabilidad genética dentro del área de desarrollo de agricultura sustentable (Maluszynski et al., 2009). En la práctica, la herramienta consiste en estudiar de dos a cuatro generaciones de material vegetal irradiado a fin de poder encontrar y comparar mutaciones encontradas con los cultivos existentes (IAEA, 2016). Los cambios que ocurren en el ADN pueden ser por eliminación, la duplicación o la inversión de segmentos cromosómicos (Aguirre et al., 2019). En gran medida, la agricultura y la seguridad alimenticia se han visto beneficiadas con la generación de estas variedades de cultivos, ya que se han logrado mejoramientos en los rendimientos, en el valor nutricional y en la tolerancia a enfermedades, plagas y a los efectos del cambio climático (IAEA, 2016; IAEA, 2022). A pesar de todo esto, la aplicación sigue siendo un área importante de investigación continua, puesto que la técnica no tan solo debe adaptarse a las características de cada cultivo, sino también debe buscar continuamente la optimización de tiempo y espacio (De los Santos, 2021). Además, debe competir con nuevos descubrimientos que son cada vez más factibles y el apareamiento de nuevas

técnicas nucleares como los haces de electrones e iones pesados para la inducción de mutaciones (De los Santos, 2021).

Efecto de la radiación ionizante en plantas

La IR en plantas tiene la capacidad de alterar procesos fisiológicos causando perturbaciones en el crecimiento, la capacidad reproductiva y la morfología en las plantas (Sparrow et al., 1971; Vandenhove et al., 2010). No obstante, la magnitud de los efectos puede variar dependiendo de diversos factores como la dosis de radiación utilizada, el tipo de fuente, la distribución temporal de la dosis, la especie, la etapa de la vida en la que se encuentre la planta (De Micco, 2011; Puerta y Morales, 2020). La clasificación de los efectos de la radiación ionizante puede ser del tipo estocástico o determinista. Los efectos determinísticos tienen un mecanismo de lesión letal a muchas células y suelen aparecer en un período corto de tiempo (Puerta y Morales, 2020; Real, 2013). Estos efectos son de naturaleza somática y la gravedad es proporcional a la dosis recibida (Puerta y Morales, 2020). Además, estos efectos tienen un umbral que establece una dosis límite que define la aparición o no del efecto (Real, 2013). Por su parte, los efectos estocásticos inducen la reparación celular tras la exposición de dosis moderadas-bajas de radiación ionizante al mediano-largo plazo (Puerta y Morales, 2020; Real, 2013). Son del tipo somático-heredable y la gravedad no es proporcional a la dosis recibida (Puerta y Morales).

En la célula vegetal, el ADN es una molécula inestable que puede dañarse de forma espontánea, por factores metabólicos o por factores estresantes (Blagojevic, 2015). En particular, la radiación ionizante puede interactuar directamente con el ADN (acción directa) o mediante la ionización de otras moléculas para formar radicales libres (acción indirecta) (Barescut et al., 2009; Blagojevic, 2015; Dowlath et al., 2021; Lachumy et al., 2013). Evidencias sugieren que el daño directo de la radiación ionizante al ADN es de un 35% y el componente indirecto es de un 65%, principalmente ocasionado por la radiólisis del agua (Puerta y Morales, 2020; Real, 2013). El proceso de la radiólisis del agua consiste en la generación de especies reactivas de oxígeno mediante la excitación de electrones liberados por la ionización de las moléculas de agua (Blagojevic, 2015; Puerta y Morales, 2020).

En términos generales, el estrés oxidativo es causado por la acumulación excesiva de ROS dentro de la célula, la cual es tóxica para el individuo (Xie et al. 2019). La producción excesiva de H_2O_2 , O_2^- y radicales de hidroxilos provoca reducción del flujo iónico y daños en macromoléculas como las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e incluso muerte celular (Choudhury et al., 2017; Hitchler y

Domann, 2021; Jalal et al., 2021; Sies, 2020). Las altas concentraciones de ROS ocasionan alteraciones que afectan la abscisión de hojas y flores, el gravitropismo de raíces y la germinación de semillas (Muñoz y Munné-Bosch, 2018; Mugnai et al., 2014; Shi et al., 2014). En cambio, las bajas concentraciones de ROS resultan beneficiosas para la planta, pues se ha evidenciado que regulan el ciclo celular, la defensa antioxidante y las respuestas adaptativas (Jalal et al., 2021). El proceso de la fotosíntesis también está estrechamente relacionado con la producción de ROS ya que, durante la cadena transportadora de electrones, la producción ROS es inevitable al ser un proceso dependiente de luz, energía y oxígeno (Choudhury, 2013; Corpas et al., 2015; Hajiboland, 2014). En presencia de luz, los ROS son generados por los cloroplastos y los peroxisomas, mientras que, en ausencia de luz, las mitocondrias son la principal fuente de producción O_2^- (Choudhury, 2013; Choudhury et al., 2017; Corpas et al., 2015). Los cloroplastos son los principales productores de O_2^- para el fotosistema I (PSI) y O_2 para el fotosistema II (PSII) (Peralta y Volke, 2012).

A fin de protegerse de los efectos nocivos de los ROS, las plantas recurren al aumento de antioxidantes, los mecanismos de la reparación de código genético y la metilación del ADN (Kabilan et al., 2018; Laanen et al., 2021). En relación a los mecanismos de defensa antioxidante, los niveles intracelulares de ROS son regulados por una compleja red de enzimas, moléculas antioxidantes y las mismas enzimas productoras de ROS para mantener la homeostasis (Peralta y Volke, 2012). Los mecanismos de defensa antioxidante actúan minimizando o eliminando la producción de ROS para evitar los niveles de toxicidad en la célula, y así asegurar la activación de la señalización celular e inducir una respuesta adaptativa al estrés abiótico (Peralta y Volke, 2012). Se ha demostrado que las dosis crecientes de IR incrementan las actividades de enzimas como la fenilalanina amoníaco-liasa (PAL), chalcona sintasa (CHS), superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GR) (Esnault et al., 2010; Gudkov et al., 2019). En cuanto a los antioxidantes, se destacan los compuestos fenólicos, carotenoides, terpeoides, tocoferoles, el ascorbato (AsA), el glutatión (GSH) (Gudkov et al., 2019). Hasta la fecha, existe escasa información sobre las interacciones de los ROS en los procesos fisiológicos de plantas irradiadas (Gill, 2015). De la misma manera, existen pocos estudios sobre las interacciones de fitohormonas y la reparación del ADN en plantas expuestas a radiación (Gudkov et al., 2019; Qi et al., 2015). A pesar de esto, la información encontrada se detalla a continuación.

En relación con el funcionamiento del sistema fitohormonal, se sabe que las fitohormonas son capaces de regular prácticamente todos los procesos fisiológicos, además de la respiración celular, la fotosíntesis y la adaptación con el entorno (Devireddy, 2021; Gill, 2015; Gudkov et al., 2019). Es por

esto, que las fitohormonas se dividen en dos grandes categorías: estimulantes como el ácido indolacético (IAA), las giberelinas (GAs) y las citoquininas (CQ); y asociadas a estrés como el etileno (ET) y el ácido abscísico (ABA) (Devireddy, 2021; Gudkov et al., 2019). Se ha reportado que las irradiaciones agudas logran aumentar temporalmente el contenido de etileno, al igual que la expresión de enzimas específicas de síntesis y de factores de transcripción sensibles al etileno (Gudkov et al., 2019; Kovalchuk et al., 2007). Por el lado de las irradiaciones crónicas, se han descrito aumentos en la tasa de expresión de genes sensibles a ABA (Gudkov et al., 2019; Kovalchuk et al., 2007). Además de esto, la teoría supone que el contenido de hormonas estimulantes debería caer frente a una exposición alta de IR provocado por la degradación de IAA tras el aumento de ROS (Kovalchuk et al., 2007). Por otro lado, el efecto estimulante de las dosis bajas de IR se logra explicar por la regulación positiva de las fitohormonas estimulantes, la supresión de las vías de traducción de señales del ET y el mecanismo regulador de ABA (Gudkov et al., 2019).

En cuanto a la reparación del ADN, es bien sabido que las plantas poseen sistemas de respuestas al daño del ADN que consisten en la detención del ciclo celular, la reparación de lesiones y la inducción de muerte celular (Yoshiyama et al. 2013). Algunas de las lesiones que la IR puede provocar en el ADN son: roturas de cadena sencilla (SSB), roturas de doble cadena (DSB), recombinación genética, sustitución y delección de bases (Gill, 2015; Real, 2013; Sage y Shikazono, 2017). En la investigación de Gill (2015) se señala que las plantas preservan la integridad de su genoma del daño por IR mediante la reparación directa, la escisión de bases o nucleótidos y la activación de puntos de control en el ciclo celular. Un ejemplo de esto es la planta *Arabidopsis thaliana*, el organismo vegetal más estudiado del mundo a nivel genético y fisiológico, en el cual se reportó la inducción de los genes RAD51, RAD54, ERCC1, BRCA-1 y SOG1 durante el ciclo celular tras irradiación gamma (Esnault et al., 2010). En particular, los genes RAD están involucrados con la reparación y recombinación homóloga; el gen ERCC1 se relaciona con la reparación por escisión; BRCA-1, regula el ciclo celular y la reparación de las rupturas de doble cadena; y SOG1, es el primer factor de transcripción específico de las plantas vinculado con la respuesta al daño del ADN por IR y está involucrado con la inducción y supresión de genes reguladores del ciclo celular (Yoshiyama et al., 2013).

Hormesis por radiación ionizante: ¿una solución al cambio climático?

La radio-hormesis es la estimulación beneficiosa debido a la exposición a dosis bajas de radiación ionizante (efecto bio-positivo), y dañina a altas dosis (efecto bio-negativo) (Luckey, 2006). Los primeros estudios sobre la aplicación de la radio-hormesis en el sector agrícola datan de la década del 60, sin embargo, por años no se registraron avances importantes en la materia hasta hace un poco más

de una década. Para saber un poco más sobre la divulgación de los resultados obtenidos de la radio-hormesis, se realizó una búsqueda bibliográfica usando las palabras claves hormesis, radiación, ionizante y plantas (*hormesis AND ionizing radiation AND plants*). El registro histórico de publicaciones de las bases de datos bibliográficos Nature, Pudmed, ScienceDirect y Scopus encontró un número de 5, 3, 41 y 495 resultados, respectivamente. También, se logró evidenciar que el mayor crecimiento de publicaciones se ha hecho entre los años 2021 y 2022.

Los efectos inducidos por las bajas dosis de radiación ionizante en plantas han evidenciado mejoramientos en el proceso germinativo de las semillas, inducción de crecimiento, maduración temprana, activación enzimática, aumento en la respiración celular y mayor resistencia a enfermedades (Agathokleous et al., 2019; Borzouei et al., 2010; Luckey, 1980). Además, las bajas dosis son capaces de controlar el grado de madurez de frutas y verduras, lo que prolonga su vida útil (Issa et al., 2011). Otro aspecto interesante de la radio-hormesis es que, teóricamente, la estimulación es del tipo metabólica y no genómica como el caso de la mutagénesis, por lo que se dice que las características estimulantes adquiridas son temporales y pueden llegar a no ser heredables (Agathokleous et al., 2019; Nario, 2017). Basándose en todo lo anterior, se podría sugerir que el uso de dosis bajas de radiación ionizante podría utilizarse como pre-acondicionamiento para mejorar la tolerancia en las plantas frente a desafíos ambientales (Antoniou, 2016). En otras palabras, el *priming* por radiación ionizante o *radio-priming* sería capaz de activar mecanismos de tolerancia en las plantas que le permitirían protegerse contra un estrés posterior de más alto nivel (Agathokleous et al., 2019; Tanou et al., 2012). De esta manera, el *radio-priming* debería mantener las concentraciones de ROS en el límite beneficioso para la planta, lo cual permitiría que la planta alcance la máxima capacidad de plasticidad biológica, se aleje de los límites perjudiciales y sea capaz de generar mejores respuestas adaptativas frente al ambiente (Bhattacharya y Rattan, 2019).

Se realizaron distintas búsquedas de patentes relacionadas con el *radio-priming*, para investigar el estatus exclusivo de la técnica. Para esto, se usaron las plataformas del Instituto Nacional de Propiedad Industrial (INAPI), la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (WIPO) y la Oficina Europea de Patentes (Espacenet). Los resultados fueron los siguientes: se encontraron 212 resultados totales con la búsqueda "*hormesis AND ionizing radiation AND plants*"; 27 resultados totales con la búsqueda "*hormesis AND ionizing radiation AND priming*"; 12 resultados totales con la búsqueda "*hormesis AND ionizing radiation AND priming AND plants*"; y 0 resultados totales con la búsqueda "*hormesis AND ionizing radiation AND priming AND plants AND NOT human*". La justificación de la última búsqueda es la eliminación completa de las patentes con algún componente

humano. Según lo encontrado, hay patentes relacionadas con la radio-hormesis y hay patentes relacionadas con el priming por radiación. No obstante, pareciera ser que aún no existe derecho exclusivo sobre el uso de *radio-priming* en plantas.

En relación con esto, resulta interesante conocer cuál podría ser el efecto de la radio-hormesis al utilizarse para adaptar a los individuos vegetales a otros agentes estresores. Esto, con la finalidad de comprender cómo la exposición a distintos niveles de IR puede modificar características fenotípicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas en las plantas y luego, teóricamente, ayudar al organismo a adaptarse a ambientes estresantes como el cambio climático. Bajo este panorama, la radio-hormesis ofrece una mirada hacia una implementación bioingenieril de resultados selectivos y características deseadas bajo su rol de agente controlador. Asimismo, el poco conocimiento sobre *radio-priming* sugiere que esta herramienta puede ser capaz de emplearse para desarrollar protocolos o prácticas sostenibles para combatir los efectos del cambio climático en las plantas. Respecto a esto, la planta herbácea *Arabidopsis thaliana* puede ser usada como sujeto experimental para analizar los efectos de la radiación ionizante a bajas dosis y su respuesta a la tolerancia ambiental debido a la capacidad adaptativa de *A. thaliana*, su corto período de generación y su pequeño, pero totalmente conocido, genoma (Blagojevic, 2015; Heath et al., 1986). Según la literatura expuesta, dentro de la zona hormética de la radiación ionizante habría una dosis de máxima respuesta que podría utilizarse como un pre-acondicionamiento en *Arabidopsis thaliana* para inducir una respuesta más eficaz a la hora de enfrentar a un desafío ambiental más severo en la posterioridad. Un estudio dedicado a los efectos del *radio-priming* en el crecimiento y desarrollo de *A. thaliana* puede establecer un punto de comparación para su uso en otras especies. En concreto, en la parte de los Anexos (A1) se describirá una posible aplicación en el rubro agrícola con los resultados obtenidos y los temas revisados en la tesis. Todo esto, con la finalidad de aportar con otra mirada investigativa al aumento de la tolerancia ambiental en cultivos de interés comercial.

III. HIPÓTESIS, OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Hipótesis Nula: La exposición a bajas dosis de radiación ionizante sobre etapas tempranas del desarrollo de *Arabidopsis thaliana* no induce una respuesta adaptativa que le permite responder a otros estreses abióticos.

Hipótesis Alternativa: La exposición a bajas dosis de radiación ionizante sobre etapas tempranas del desarrollo de *Arabidopsis thaliana* induce una respuesta adaptativa que le permite responder a otros estreses abióticos.

Objetivo General: Evaluar los efectos de la exposición a bajas dosis de radiación ionizante sobre etapas tempranas del desarrollo de *Arabidopsis thaliana* y su respuesta adaptativa a otros estreses abióticos.

Objetivos Específicos:

1. Desarrollar un diseño experimental que permita determinar la relación dosis-respuesta de la exposición de *Arabidopsis thaliana* a dosis crecientes de radiación ionizante.
2. Determinar los efectos de la exposición de *Arabidopsis thaliana* a dosis crecientes de radiación ionizante, sobre parámetros fisiológicos como germinación, área de roseta, largo de raíz y fluorescencia de la clorofila.
3. Determinar un *priming* dentro de la zona hormética, en plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a radiación ionizante, que permita inducir una respuesta adaptativa a estrés salino y estrés por calor.
4. Determinar los efectos de la zona hormética en plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a estrés salino y estrés por calor, sobre parámetros fisiológicos como área de roseta, largo de raíz y fluorescencia de la clorofila.

IV. METODOLOGÍA

La Figura 2 representa, en su totalidad, el diseño experimental que se llevó a cabo en esta investigación. A grandes rasgos, se configuró una curva de dosis-respuesta que lograra identificar la zona radio-hormética en *A. thaliana*. La determinación de este rango de dosis estimulantes permitió evaluar los efectos de la radiación ionizante a bajas dosis en la respuesta adaptativa de plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a ambientes estresantes.

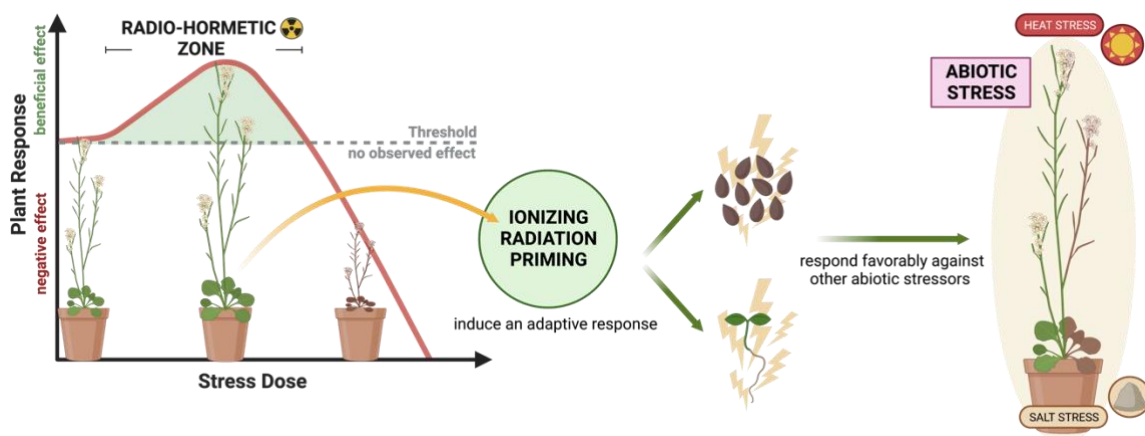


Figura 2. Esquema del priming por radiación ionizante en *Arabidopsis thaliana*. Se muestra esquemáticamente el diseño experimental en el que se basó para realizar los experimentos de investigación. Elaboración propia, creada con BioRender.com

Materiales vegetales

Para todos los objetivos, se utilizaron semillas de *Arabidopsis thaliana* ecotipo Columbia Col-0, las cuales se esterilizaron y estratificaron antes de la siembra. El proceso de esterilización se realizó en una campana de flujo laminar donde se realizaron cinco lavados: el primero con una solución de etanol al 70% por 1 minuto; el segundo compuesto por 50% agua destilada y 50% hipoclorito sódico por 7 minutos; y los últimos tres fueron una serie de lavados de agua estéril con una duración de 1 minuto cada uno (Fernández, 2016; Pinedo et al., 2015). Con el agua estéril del último lavado, las semillas se sometieron al proceso de estratificación durante 96 horas a una temperatura de 4°C en oscuridad total (Montero, 2016; Pinedo et al., 2015). Respecto a las condiciones de siembra, las semillas se sembraron en placas Petri cuadradas que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con 1,5% sacarosa y 0,8% de agar. Todas las placas se colocaron de forma vertical y azarosa en una cámara de crecimiento a 22°C.

Lugar de estudio

El proyecto se realizó dentro de dos espacios físicos: En primer lugar, en el Laboratorio de Bioingeniería de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Adolfo Ibáñez en la sede de Peñalolén; y, en segundo lugar, el Laboratorio de Radiobiología Vegetal (LRBV) del Centro de Tecnologías Nucleares en Ecosistemas Vulnerables Nucleares de la Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN) en la comuna de Las Condes.

Exposición de radiación ionizante dosificada

Tal como muestra el esquema de la Figura 2, se decidió identificar la existencia de diferencias en la respuesta a radiación ionizante en semillas y plántulas de *Arabidopsis thaliana*. Esto, porque tanto la germinación de semillas como el desarrollo de plántulas son las etapas del desarrollo más sensibles al estrés abiótico (Johnson y Puthur, 2021). También, se decidió analizar la relación entre la radiación ionizante y el contenido de agua en un material vegetal. Se ha descrito en la literatura que el agua tiene un rol importante en la formación de radicales libres y en la sensibilidad al daño por radiación ionizante (Blagojevic, 2015; Puerta y Morales, 2020). En vista de lo anterior, se evaluaron tres manejos pre-irradiación que son esquematizados en la Figura 3 y se detallan a continuación:

1. **Irradiación en semilla seca (*dried seeds*; DS):** Las semillas de *A. thaliana* fueron expuestas a dosis crecientes de radiación ionizante sin previa de esterilización y estratificación. Transcurrida la irradiación, las semillas se esterilizaron y estratificaron para luego sembrarse.
2. **Irradiación en semilla embebida (*soaked seeds*; SS):** Las semillas de *A. thaliana* fueron expuestas a dosis crecientes de radiación ionizante con una previa de esterilización y estratificación. Transcurrida la irradiación, las semillas se sembraron.
3. **Irradiación en plántulas (*seedlings*; S):** Las semillas de *A. thaliana* se esterilizaron y estratificaron para luego sembrarse. Trascurrida una semana desde la siembra, las plántulas fueron expuestas a dosis crecientes de radiación ionizante.

Para cada manejo pre-irradiación, se tomaron registros fotográficos en los días 4, 7 y 14 después de la siembra (*days after sowing* en inglés; DAS) con el escáner Epson Perfection V600 Foto. Estas fotos fueron analizadas con el programa computacional ImageJ, a fin de obtener los datos de parámetros fisiológicos: porcentaje de germinación, largo de raíz y área de roseta. Entre los 4DAS y 14DAS, se obtuvieron las tasas de crecimiento para cada dosis. Al finalizar el experimento (14DAS), se midió la eficiencia fotoquímica del PSII, como parámetro de estrés fisiológico, utilizando el equipo Fluorpen FP 110.

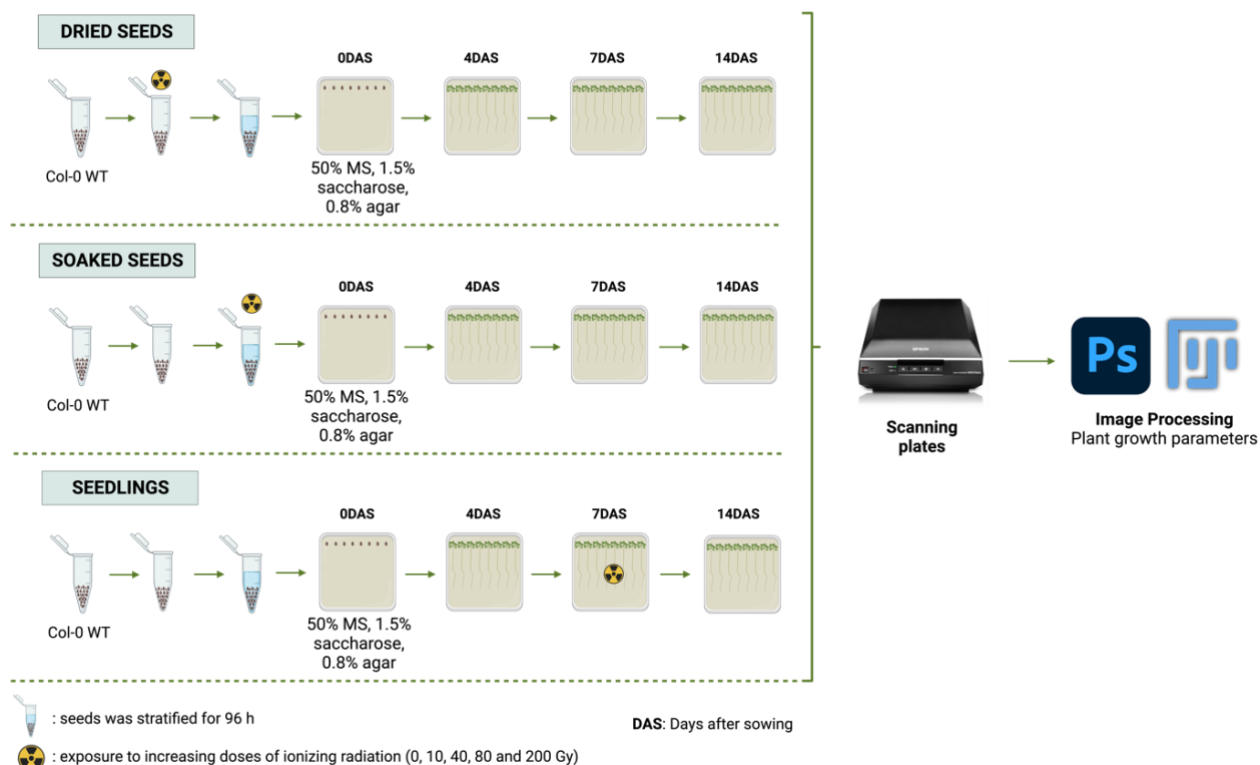


Figura 3. Esquema del diseño experimental de la curva de dosis-respuesta de radiación ionizante en *Arabidopsis thaliana*. Este diseño experimental se realizó para evaluar los objetivos 1 y 2. Elaboración propia, creada con BioRender.com

Respecto a la irradiación, se expusieron los distintos grupos de plantas a los tratamientos respectivos, usando un irradiador Gammacell 220R perteneciente al Laboratorio de Irradiación de la CCHEN (Figura 4), el cual cuenta con una fuente de lápices de Cobalto (Co^{60}), una actividad aproximada de 800 Curie y un volumen cilíndrico de 2 litros para irradiar (CCHEN, 2000; Gutierrez et al., 2021). Para el volumen de irradiación, se estableció una tasa de dosis de 8,98 Gy/min según instructivos internos de CCHEN y la dosimetría Fricke de acuerdo con la Norma ASTM E-1026 (Gutierrez et al., 2021). Fue posible obtener una determinada dosis de radiación para cualquier fecha y tiempo de exposición gracias a la tasa de dosis establecida y a la vida media o semi-período de Co^{60} . La literatura explica que los rangos de exposición en plantas se clasifican en dosis bajas (1-10 Gy), dosis moderadas (10-50 Gy) y dosis altas (>50 Gy), lo cual contrasta con lo descrito en humanos, donde la exposición a dosis mayores a 2 Gy es altamente peligrosa (Caplin y Walley, 2018; Sutherland et al., 2000; Wi et al., 2007). Por lo anterior, se decidió utilizar una curva dosimétrica con dosis crecientes desde 0 a 200 Gy con dos objetivos: establecer la muerte del 50% de los individuos (DL50) e identificar la zona hormética.



Figura 4. Irradiador Gammacell 220-R de Cobalto (Co^{60}). Se muestra una foto del irradiador utilizado en esta investigación, el cual se encuentra en Comisión Chilena de Energía Nuclear. Fuente propia.

Exposición a ambientes estresantes

Para evaluar los efectos de la radiación ionizante como *priming* en la respuesta adaptativa de *Arabidopsis thaliana* a ambientes estresantes, se diseñó el esquema de la Figura 5. La metodología por seguir fue realizar los procesos de irradiación de tejidos de la misma manera que se señaló anteriormente en la sección “*Exposición de radiación ionizante dosificada*”, pero esta vez usando las dosis de IR pertenecientes al rango de radio-hormesis. Entonces, las plantas provenientes de los distintos tipos de irradiación se trasplantaron de la siguiente manera:

1. **Irradiación en semilla seca (*dried seeds*):** Después de 7 días desde la siembra, las plantas originadas de este material irradiado se trasplantaron de forma azarosa a los distintos ambientes estresantes.
2. **Irradiación en semilla embebida (*soaked seeds*):** Después de 7 días desde la siembra, las plantas originadas de este material irradiado se trasplantaron de forma azarosa a los distintos ambientes estresantes.
3. **Irradiación en plántulas (*seedlings*):** Después de 4 días desde la irradiación, las plantas originadas de este material irradiado se trasplantaron de forma azarosa a los distintos ambientes estresantes.

La definición de los ambientes de estrés se basó en lo encontrado en la literatura sobre estrés salino y estrés por calor en *A. thaliana*. En relación con estrés por calor, la literatura explica que hay tres rangos térmicos que regulan los niveles de transcripción de genes de *A. thaliana*: para valores menores a 4°C, la planta sufre estrés térmico por frío; el rango óptimo de crecimiento es entre 22 a 24 °C; y

para valores mayores a 37°C, la planta sufre estrés por calor (Swindell et al., 2007). Respecto a la definición de los ambientes salinos, se tomó en cuenta que *A. thaliana* tienen la capacidad de crecer a dosis moderadas de salinidad, como por ejemplo en 50mM de cloruro de sodio (NaCl), a pesar de ser una planta glicófita (Álvarez, 2018; Sanders, 2000). Adicionalmente se complementó con cloruro de calcio (CaCl₂) en una relación 1/10 respecto al NaCl tal como se describe en Pinedo et al. (2015). Esto permite tener condiciones de suelo más cercanas a la realidad. Las plantas toman nutrientes desde el suelo dependiendo de sus requerimientos ambientales, por ejemplo, el catión calcio (Ca²⁺) cumple funciones en la constitución de órganos estructurales y funciones catalizadoras (Ince, 2016). La adición de calcio en una solución salina aumenta la absorción y el transporte del potasio (K⁺), mejora la actividad (K⁺/Na⁺) y participar en mecanismos de exclusión del sodio (Na⁺) (Etehadnia, 2010). De esta manera, el calcio es capaz de elevar la tolerancia al estrés salino mediante una serie de mecanismos como la estabilización de membranas y paredes celulares (Etehadnia, 2010; Ince, 2016). Basándose en lo anterior, los escenarios de ambientes se diseñaron de la siguiente manera:

1. **Escenario sin estrés (*without stress*):** Las plantas originadas de los materiales vegetales sometidos a los distintos tipos de irradiación se traspasaron a placas Petri cuadradas que contienen medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con 1,5% sacarosa y 0,8% de agar. Se mantuvieron a una temperatura de 22°C de manera vertical por 14 días.

2. **Escenario estrés por calor:**

- 2.1 **Estrés por calor leve (*mild-heat stress*):** Las plantas originadas de los materiales vegetales sometidos a los distintos tipos de irradiación se traspasaron a placas Petri cuadradas que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con 1,5% sacarosa y 0,8% de agar. Durante el primer día del traspaso, las placas se sometieron a un shock térmico de 3 horas de duración a una temperatura de 40°C. El resto de los 13 días, las placas se mantuvieron a una temperatura de 22°C de manera vertical.

- 2.2 **Estrés por calor severo (*high-heat stress*):** Las plantas originadas de los materiales vegetales sometidos a los distintos tipos de irradiación se traspasaron a placas Petri cuadradas que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con 1,5% sacarosa y 0,8% de agar. Durante el primer día del traspaso, las placas se sometieron a un shock térmico de 5 horas de duración a una temperatura de 40°C. El resto de los 13 días, las placas se mantuvieron a una temperatura de 22°C de manera vertical.

3. **Escenario estrés salino:**

- 3.1 **Estrés salino leve (*mild-salt stress*):** Las plantas originadas de los materiales vegetales sometidos a los distintos tipos de irradiación se traspasaron a placas Petri cuadradas que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con una

concentración salina compuesta por 50 mM de cloruro de sodio (NaCl) y 5 mM de cloruro de calcio (CaCl_2) y 0,8% de agar. Se mantuvieron a una temperatura de 22°C de manera vertical por 14 días.

3.2 Estrés salino severo (*high-salt stress*): Las plantas originadas de los materiales vegetales sometidos a los distintos tipos de irradiación se traspasaron a placas Petri cuadradas que contenían medio Murashige y Skoog (MS) al 50% con una concentración salina compuesta por 100 mM de cloruro de sodio (NaCl) y 10 mM de cloruro de calcio (CaCl_2) y 0,8% de agar. Se mantuvieron a una temperatura de 22°C de manera vertical por 14 días.

Para cada tipo de irradiación, se tomaron registros fotográficos en los días 0 y 14 después del traspaso (*days after transplanting* en inglés; DAT) con el escáner Epson Perfection V600 Foto. Estas imágenes fueron analizadas con el programa computacional ImageJ, a fin de obtener la ganancia de crecimiento en los parámetros fisiológicos: largo de raíz y área de roseta. Para cada dosis, se registraron las tasas de crecimiento obtenidas entre los 0DAT y 14DAT. Al finalizar el experimento (14DAT), se midió la eficiencia fotoquímica del PSII, como parámetro de estrés fisiológico, utilizando el equipo Fluorpen FP 110.

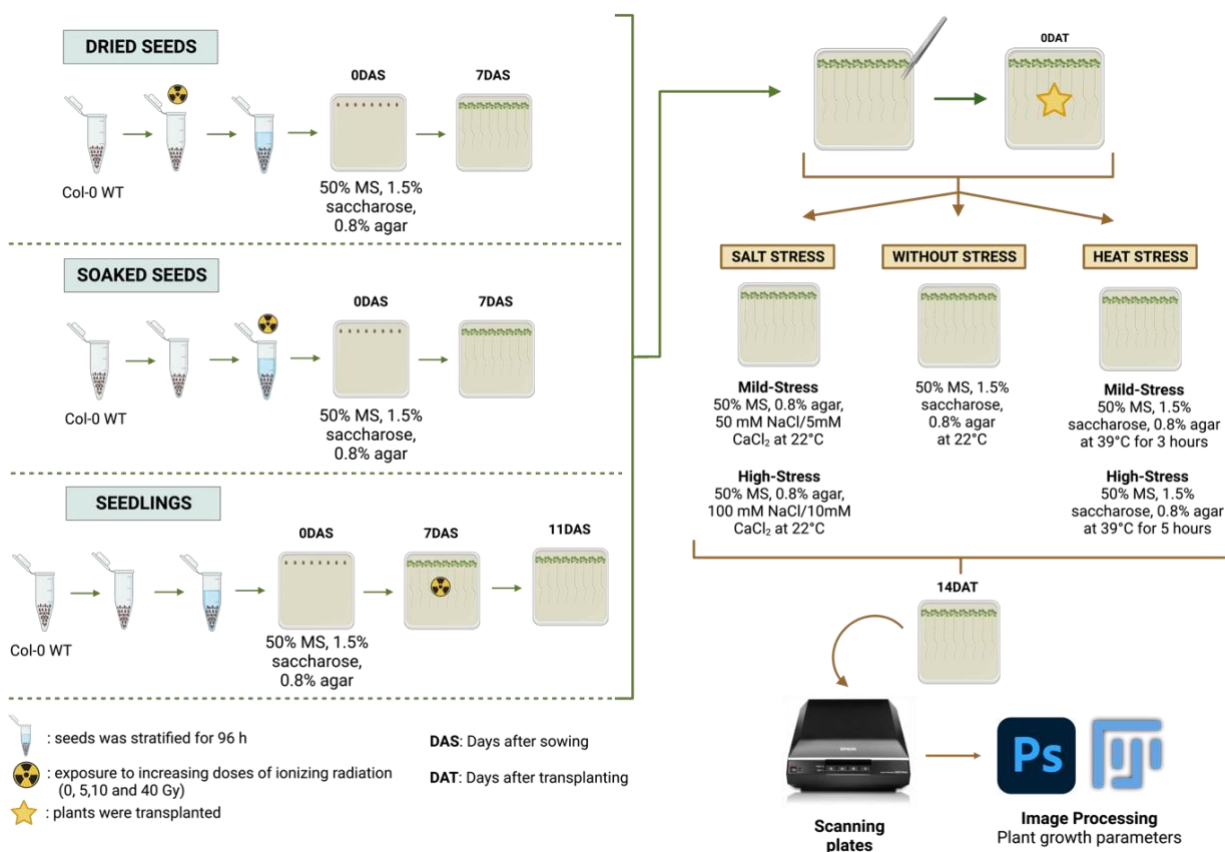


Figura 5. Esquema del diseño experimental del *radio-priming* en *Arabidopsis thaliana*. Este diseño experimental se realizó para evaluar los objetivos 3 y 4. Elaboración propia, creada con BioRender.com

Análisis estadístico

Se usó el análisis de varianza (ANOVA) para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba Tukey al 5% ($p \leq 0,05$). Para aquellos conjuntos de datos que no cumplieran con normalidad ni se pudieran transformar, se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn al 5% ($p \leq 0,05$). Se realizaron los análisis estadísticos con el programa GraphPad PRISM software 8 (GraphPad Software, Inc.). La normalidad de los datos se analizó usando las pruebas D'Agostino & Pearson, Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. Por otra parte, se transformaron todos aquellos conjuntos de datos que no cumplieran con la normalidad. Además, para el análisis de la homogeneidad de la varianza (homocedasticidad) se utilizó la prueba de Hartley and Bartlett ($p \leq 0,05$). Se identificaron outliers utilizando el método ROUT que permite identificar uno o más valores atípicos usando $Q = 1\%$, lo que significa que cuando hay valores atípicos en los datos, Q es la tasa máxima deseada de descubrimiento falso. Entonces, se establece Q al 1% para que al menos el 99% de los valores atípicos son identificados como reales y no más del 1% de los valores atípicos identificados sean falsos

V. RESULTADOS OBTENIDOS

Objetivos 1 y 2

Para determinar la curva de dosis-respuesta a la exposición de radiación ionizante en *A. thaliana* se usaron las dosis 0, 10, 40, 80 y 200 Gy. Con estos resultados, se determinaron los efectos de la exposición a dosis crecientes de radiación ionizante sobre los parámetros fisiológicos: germinación, área de roseta, largo de raíz principal y fluorescencia de la clorofila. Los resultados se muestran a continuación:

Efecto de la radiación ionizante en la germinación

En la Figura 6, se muestra el porcentaje de semillas germinadas para cada tipo de irradiación a los 7 días desde la siembra (DAS). Cabe mencionar que, hasta este momento de medición, las plántulas de la irradiación *seedlings* (Fig.6C) aún se mantenían sin irradiación, por lo que se muestra el crecimiento de *A. thaliana* a condiciones control. Por otra parte, para las irradiaciones *dried seeds* (Fig.6A) y *soaked seeds* (Fig.6B), los análisis ANOVA señalan que no existe diferencia significativa

entre las medias de las dosis utilizadas. Lo que concluye que no hubo efecto de la radiación ionizante en la germinación para las dosis usadas.

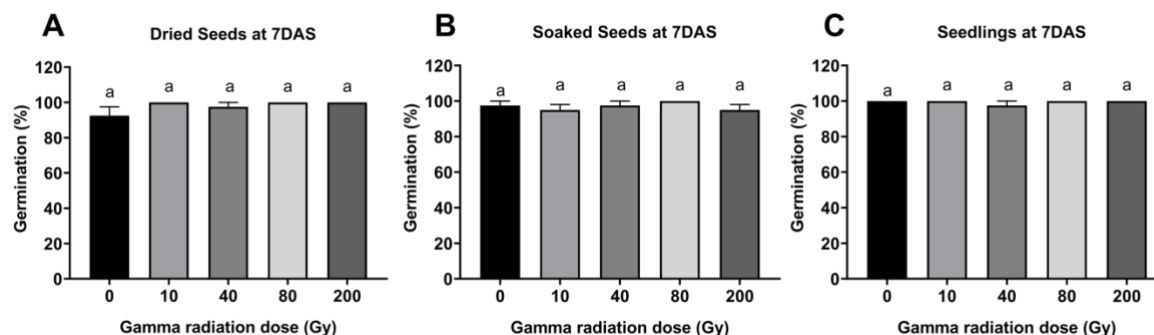


Figura 6. Efecto de la radiación ionizante a distintas dosis en la germinación en *Arabidopsis thaliana* a los 7 días después de la siembra. (A) Porcentaje de germinación de semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *dried seeds*. (B) Porcentaje de germinación de semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *soaked seeds*. (C) Porcentaje de germinación de las plántulas irradiadas con el tratamiento *seedlings*. Los conjuntos de datos no cumplen con normalidad ni se pudieron transformar, por lo que se analizaron con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). Los datos son medias $\pm$ SE de 3-5 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 20-40 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

Efecto de la radiación ionizante en roseta y raíz

I. Irradiación *dried seeds*

En relación con el área de roseta, se registró que las plantas sometidas a la dosis 200 Gy presentaron una disminución en el crecimiento del 20% respecto al crecimiento del control (0 Gy) tras 4 días después de la siembra (DAS) (Fig.7A₁). Sin embargo, a los 7DAS (Fig.7A₂), se observó una tendencia negativa al incremento de las dosis. En este caso, las plantas del tratamiento 80 Gy tuvieron una disminución en el crecimiento del 16%, y las plantas provenientes de la dosis 200 Gy continuaron teniendo un menor crecimiento a comparación del control. A los 14DAS (Fig.7A₃), la tendencia negativa al incremento de las dosis se acentuó aún más. Junto con esto, ninguna dosis logró promover el crecimiento. El comportamiento del parámetro largo de raíz es similar a lo que se describe anteriormente. A los 4DAS (Fig.7B₁), las plantas sometidas a la dosis 200 Gy registraron una disminución en el crecimiento del 32% respecto al crecimiento del control. Luego a los 7DAS

(Fig.7B₂), se acentuó el decrecimiento al aumento de las dosis. Las plantas de las dosis 40, 80 y 200 Gy presentaron un decrecimiento del orden de 18%, 14% y 29% a comparación del control. Finalmente, al igual que el parámetro anterior, ninguna dosis que logró promover el crecimiento a los 14DAS (Fig.7B₃). En cuanto a las tasas de crecimiento de ambos parámetros, ninguna dosis registró valores de crecimiento mayores al control.

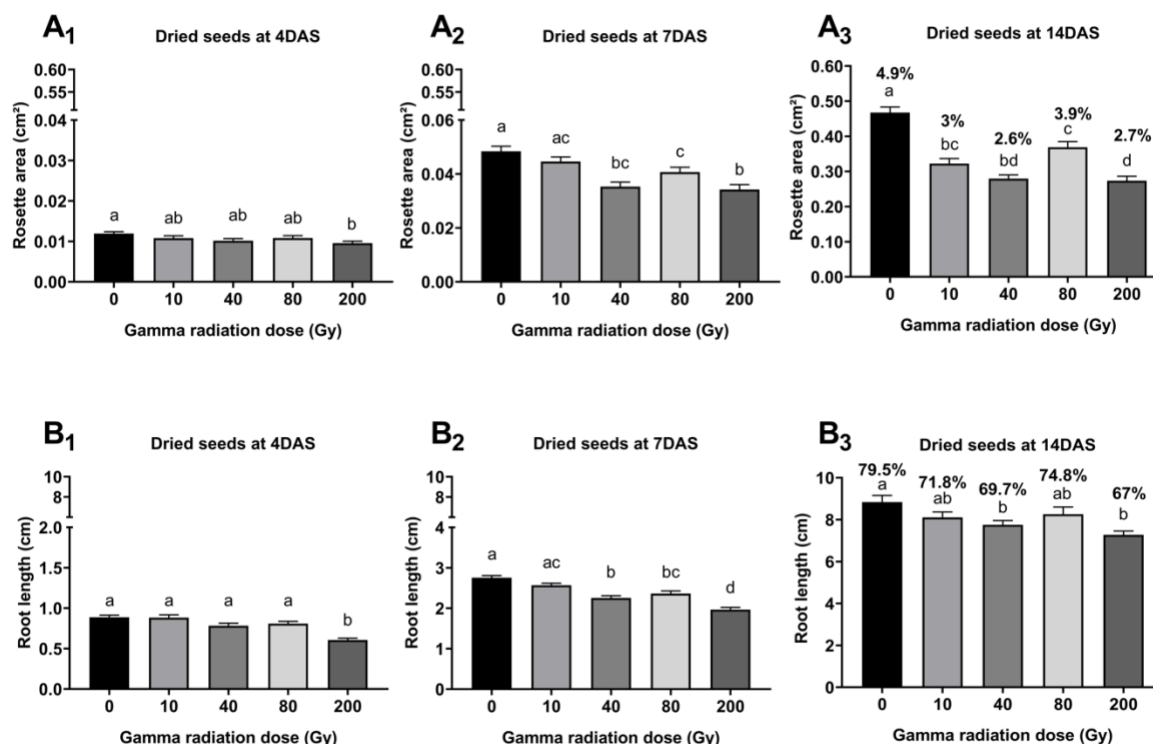


Figura 7. Efecto de la radiación ionizante a distintas dosis sobre el área de roseta y la longitud de raíz en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *dried seeds*. (A1) Área de roseta al día 4 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (A2) Área de roseta al día 7 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (A3) Área de roseta al día 14 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (B1) Largo de raíz al día 4 después de la siembra. (B2) Largo de raíz al día 7 después de la siembra. (B3) Largo de raíz al día 14 después de la siembra. Los datos son medias $\pm$ SE de 3-5 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 20-40 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

II. Irradiación *soaked seeds*

No se presentaron diferencias significativas en el área de roseta tras 4DAS (Fig.8A₁). No obstante, desde los 7DAS (Fig.8A₂), se observó que las plantas originadas del tratamiento 80 Gy tuvieron un 25% más de crecimiento en comparación con el control (0 Gy). Por el contrario, las plantas sometidas a 200 Gy crecieron un 33% menos que 0 Gy. A los 14DAS (Fig.8A₃), las plantas provenientes de las dosis 10 y 80 Gy crecieron un 25% y un 29% más que el control. Por lo que se refiere a las plantas de la dosis 200 Gy, decrecieron en un 50% respecto al control. En cuanto a las tasas de crecimiento, las plantas procedentes de las dosis 10 y 80 Gy registraron los valores más altos de ganancia de biomasa en el tiempo, con un 4,4% y 4,5%. En relación con el largo de raíz principal, el gráfico de los 4DAS (Fig.8B₁) evidenció una tendencia negativa al incremento de las dosis, donde las plantas resultantes del tratamiento 200 Gy crecieron un 73% menos que el control (0 Gy). Esta tendencia se mantiene en el gráfico de los 7DAS (Fig.8B₂) y de los 14DAS (Fig.8B₃). A pesar de lo anterior, las plantas de las dosis 10 y 40 Gy registraron tasas de crecimiento del 75,1% y 71,6% para el largo de raíz.

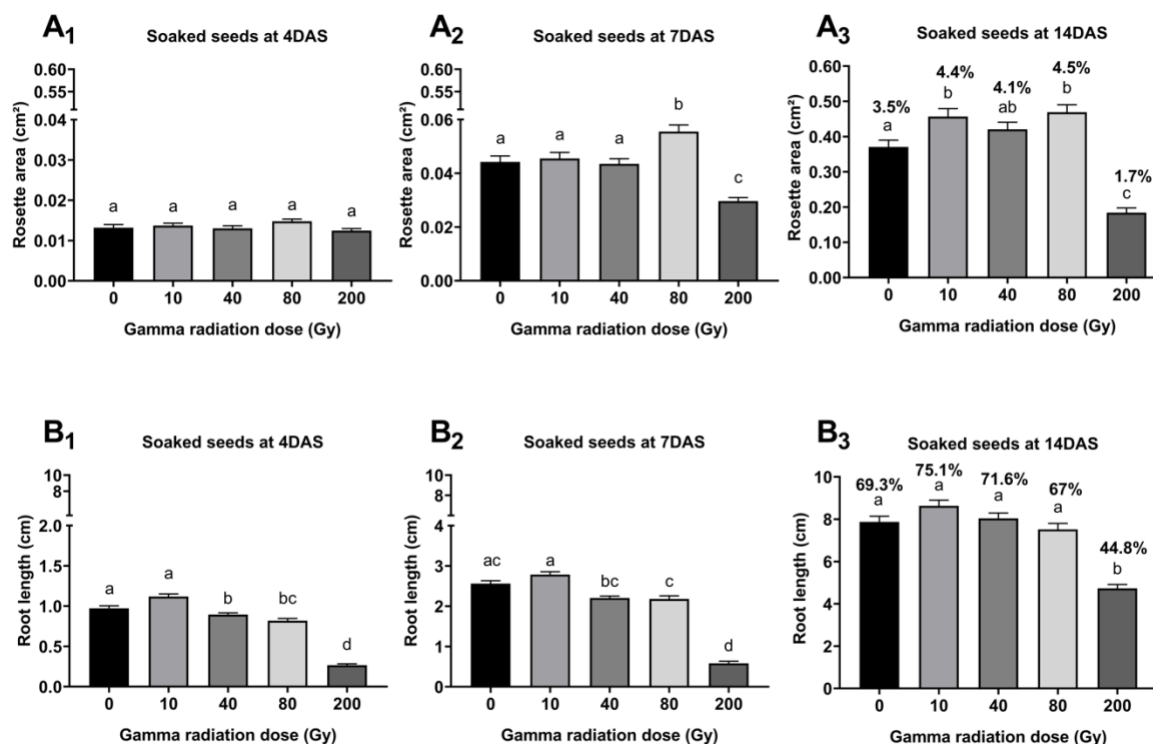


Figura 8. Efecto de la radiación ionizante a distintas dosis sobre el área de roseta y la longitud de raíz en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *soaked seeds*. (A1) Área de roseta al día 4 después de la siembra; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre

los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (A2) Área de roseta al día 7 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (A3) Área de roseta al día 14 después de la siembra. (B1) Largo de raíz al día 4 después de la siembra; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B2) Largo de raíz al día 7 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (B3) Largo de raíz al día 14 después de la siembra; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). Los datos son medias $\pm$ SE de 3-5 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 20-40 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

III. Irradiación *seedlings*

Tanto para el área de roseta como la longitud de raíz, los gráficos de 4DAS (Fig.9A₁ y Fig.9B₁) y 7DAS (Fig.9A₂ y Fig.9B₂), muestran los resultados de *A. thaliana* a condiciones control sin irradiación. Como era de esperar, las plantas no mostraron diferencias significativas hasta los gráficos de 14DAS (Fig.9A₃ y Fig.9B₃). Los resultados de ambos parámetros de crecimiento resultaron verse afectados al incremento de las dosis de radiación ionizante. Aunque no hubo diferencias significativas a los 14DAS, las plantas expuestas a 10 Gy obtuvieron tasas de crecimiento mayores a comparación al control (0 Gy). Estos valores fueron: 63,5% para raíz principal, y 3,4% para roseta.

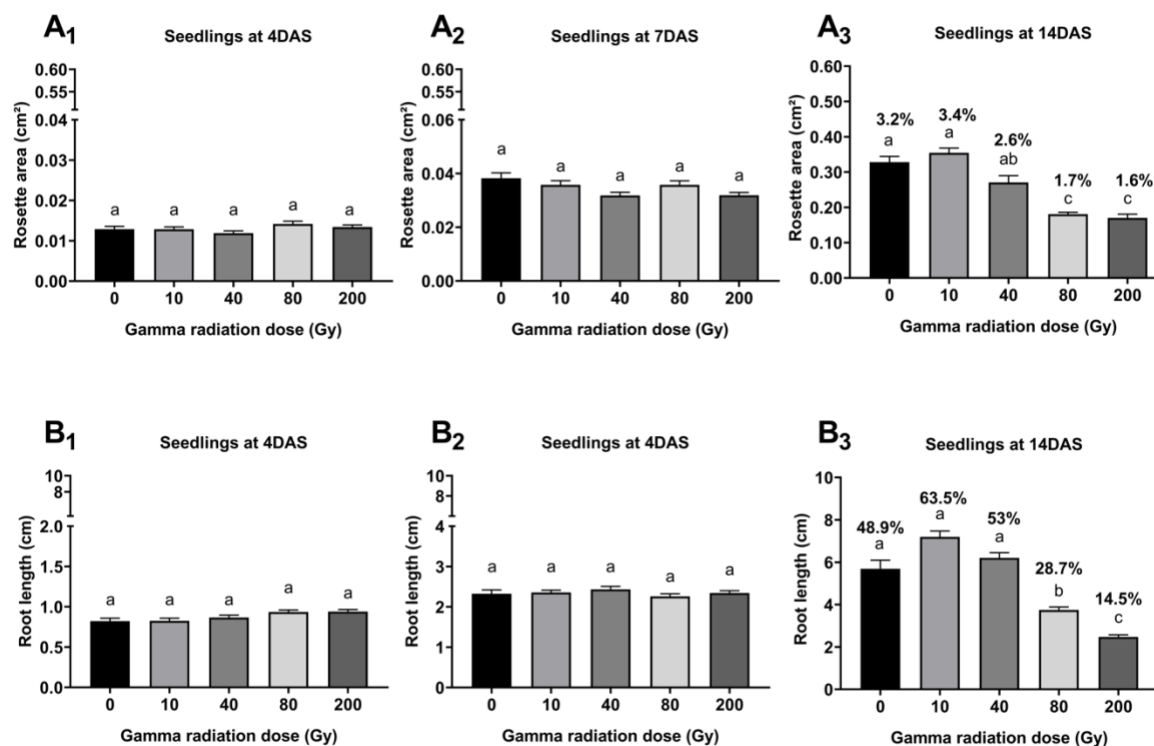


Figura 9. Efecto de la radiación ionizante a distintas dosis sobre el área de roseta y la longitud de raíz en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *seedlings*. (A1) Área de roseta al día 4 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (A2) Área de roseta al día 7 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (A3) Área de roseta al día 14 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y + 1)$ para su análisis. (B1) Largo de raíz al día 4 después de la siembra; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B2) Largo de raíz al día 7 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. (B3) Largo de raíz al día 14 después de la siembra; el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y + 1)$ para su análisis. Los datos son medias $\pm$ SE de 3-5 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 20-40 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

Efecto de la radiación ionizante en la eficiencia máxima del fotosistema II

El efecto de la radiación ionizante sobre la eficiencia máxima del fotosistema II (PSII) se refleja con el parámetro F_v/F_m en la Figura 10 (Butler, 1978). Para el caso de las irradiaciones *dried seeds* (Fig.10A) y *soaked seeds* (Fig.10B), los análisis ANOVA arrojaron que no existe diferencia significativa entre las medias de las dosis utilizadas. Por el contrario, en la irradiación *seedlings* (Fig.10C), las plantas expuestas a 200 Gy mostraron ser significativamente distintas. Junto con los análisis estadísticos, los gráficos presentan líneas grises que representan al valor 0,82. Este valor refleja el óptimo de la eficiencia fotoquímica del PSII para plantas con metabolismo fotosintético C_3 como *Arabidopsis thaliana* (Björkman y Demming, 1978). Se puede evidenciar que en los gráficos de *dried seeds* (Fig.10A) y *soaked seeds* (Fig. 10B) no se logró alcanzar la óptima fluorescencia de la clorofila para ninguna dosis utilizada, incluyendo el control (0 Gy). Además, las plantas de la irradiación *dried seeds* (Fig.10A) mostraron una tendencia negativa al incremento de dosis. Respecto a la irradiación *seedlings* (Fig.10C), en el gráfico también se logró visualizar una tendencia negativa al incremento de dosis. No obstante, las plantas de los tratamientos 0 y 10 Gy alcanzaron valores muy cercanos al óptimo.

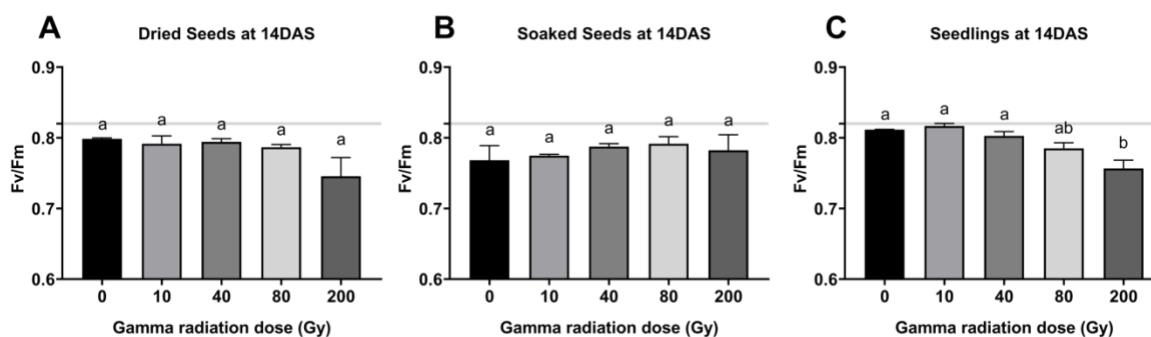


Figura 10. Eficiencia fotosintética del fotosistema II a los 14 días después de la siembra en *Arabidopsis thaliana*. (A) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *dried seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *soaked seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (C) Plántulas irradiadas con el tratamiento *seedlings*. Los datos son medias $\pm$ SE de 3-5 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 20-40 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

Objetivos 3 y 4

Luego de obtener los resultados de los Objetivos 1 y 2, se logró identificar las dosis pertenecientes a los posibles rangos de respuesta hormética para cada irradiación de *A. thaliana*. Para esto, se estableció usar las dosis 0, 5, 10 y 40 Gy para probar el *radio-priming* en los cinco escenarios de ambientes de estudio para los tres tipos de irradiación en *A. thaliana*. Con estos resultados, se determinaron los efectos de la respuesta del *radio-priming* sobre los parámetros fisiológicos: área de roseta, largo de raíz principal y fluorescencia de la clorofila.

En relación con el tiempo de traspaso, se tomó en cuenta que las variaciones más altas de crecimiento se registraron entre los 7 y 14DAS (Anexo A2), ya sea para ambos parámetros de estudio (área de roseta y largo de raíz) y cualquier tipo de irradiación. Este dato puede explicar que, teóricamente, *A. thaliana* se encuentra atravesando un crecimiento exponencial (Boyes, 2001). La literatura vincula este crecimiento con el desarrollo de plántulas, proceso que va desde la apertura de los cotiledones con aparición de raíces primarias hasta la aparición de entre 4 a 5 hojas (TAIR, 2006; Boyes, 2001). Esta información es relevante, pues ya se mencionó anteriormente que el desarrollo de plántulas es una de las etapas del desarrollo más sensibles al estrés abiótico (Johnson y Puthur, 2021). Por consiguiente, la metodología a seguir (Fig. 5) tomó en cuenta lo anterior para diseñar el experimento. Los resultados se muestran a continuación:

Efecto del *radio-priming* en el área de roseta

La Figura 11 muestra el área de roseta de las plantas provenientes de los distintos tratamientos de irradiación justo antes del traspaso a condiciones de estrés, es decir, se visualiza el efecto de la radiación ionizante sobre el parámetro a condiciones normales de crecimiento. En la irradiación *dried seeds* (Fig.11A), el crecimiento del área de roseta de las plantas provenientes de la dosis 40 Gy fue un 14% menor que la dosis control (0 Gy). De la misma manera, en la irradiación *seedlings* (Fig.11C), el área de roseta de las plantas expuestas a 40 Gy fue un 10% menor que 0 Gy. Por otro lado, las plantas de la irradiación *soaked seeds* (Fig.11B) no presentaron diferencias significativas a ninguna dosis.

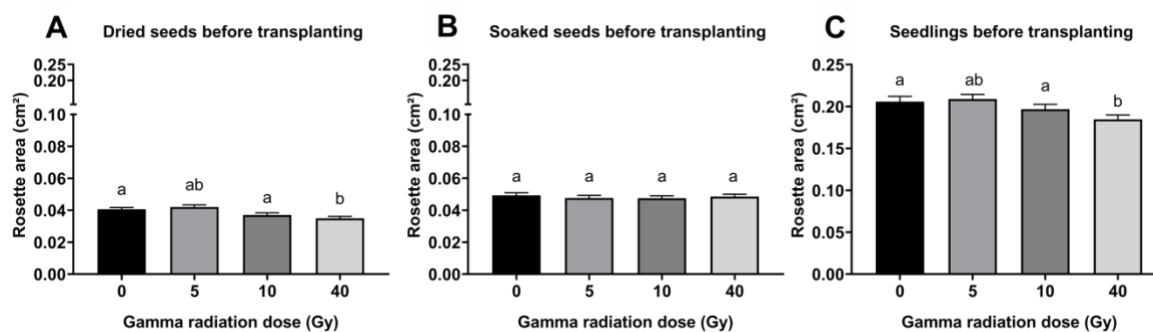


Figura 11. Efecto del radio-priming en el área de roseta antes del traspaso en *Arabidopsis thaliana*. (A) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *dried seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *soaked seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (C) Plántulas irradiadas con el tratamiento *seedlings*. Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$).

I. Irradiación *dried seeds*

En el ambiente *without stress* (Fig.12A), las plantas sometidas a 40 Gy tuvieron mayor crecimiento, lo que contrarresta con la información entregada en la Figura 11A. La ganancia de crecimiento respecto al control (0 Gy) fue de un 17,6%, lo que también se traduce en una tasa mayor de crecimiento. En relación con el estrés por calor, tras comparar el área de roseta de los tres tratamientos control (0 Gy) en los ambientes *without stress*, *mild-heat stress* y *high-heat stress* (Fig.12A, Fig.12B y Fig.12C), se evidenció que los ambientes de estrés no fueron lo suficientemente estresantes para las plantas de *A. thaliana*. En particular, para el caso de *high-heat stress* (Fig.12C), la ganancia de crecimiento de las plantas control fue de un 46,2% a comparación de las plantas control de *without stress* (Fig.12A). De la misma manera, la ganancia de crecimiento de las plantas control de *mild-heat stress* (Fig.12B) fue de un 29,7%. De lo anterior, se concluye que no se logró someter a las plantas a condiciones realmente estresantes que reflejen cambios fenotípicos a ninguna dosis utilizada. Respecto a la existencia de radio-protección, los análisis estadísticos y las tasas de crecimiento no arrojaron diferencias significativas. Contrariamente, en ambos grados de estrés salino, el crecimiento registrado en las plantas control fue considerablemente menor respecto al control de *without stress*

(Fig.12A). En concreto, las plantas control de *mild-salt stress* (Fig.12D) y *high-salt stress* (Fig.12E) obtuvieron un 53% y 60,8% menos de crecimiento, respectivamente. Esto demostraría que los ambientes fueron capaces de estresar a las plantas de *A. thaliana*. Respecto a la existencia de radio-protección, tampoco se logró obtener radio-protección a ninguna dosis. Es más, en *high-salt stress* (Fig.12E), el incremento de las dosis afecta aún más al crecimiento de las plantas.

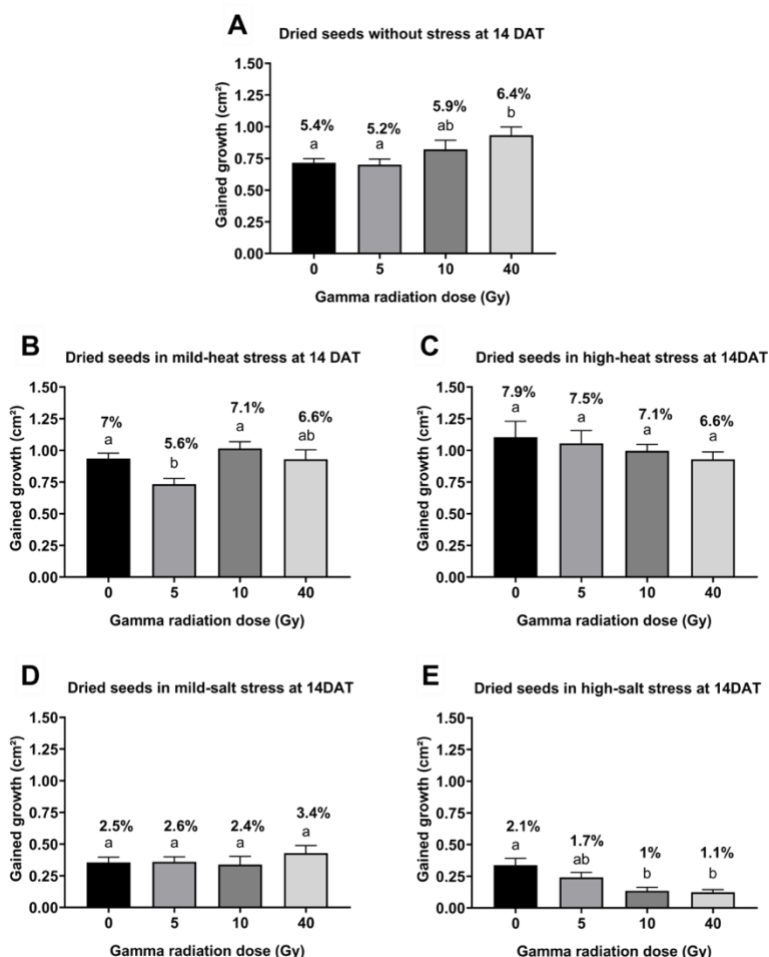


Figura 12. Efecto del radio-priming en roseta a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *dried seeds*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 5 horas); el conjunto de datos se transformó con la función $y = \sqrt{y}$ para su análisis. (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM

NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

II. Irradiación *soaked seeds*

Las plantas sometidas a las dosis 5 y 10 Gy obtuvieron un 23,5% y 27,1% más de crecimiento en *without stress* (Fig.13A). Asimismo, ambas dosis tuvieron las tasas de crecimientos más grandes. Respecto al estrés por calor, al igual que la irradiación anterior, los ambientes no fueron lo suficientemente estresantes para las plantas de *A. thaliana*. Es más, en *mild-heat stress* (Fig.13B), las plantas del tratamiento 10 Gy crecieron un 35,3% más respecto al su respectivo control. Por otro lado, los ambientes salinos lograron estresar a las plantas de *A. thaliana* y registrar radio-protección. En concreto, en el ambiente *mild-salt stress* (Fig.13D), las plantas provenientes de 5 y 10 Gy aumentaron su crecimiento en un 17,7% y 29,1% respecto al control, lo que se traduce en radio-protección para ambas dosis. Asimismo, en *high-salt stress* (Fig.13E), las plantas sometidas a 10 Gy tuvieron un 18,2% más de crecimiento a comparación de su control.

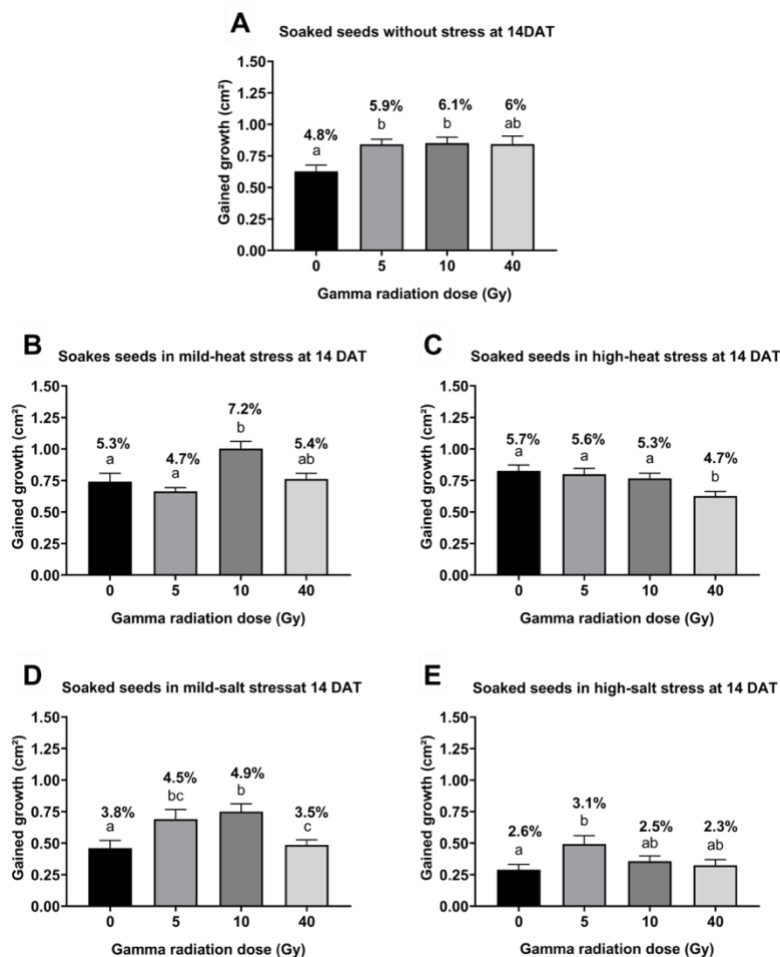


Figura 13. Efecto del radio-priming en roseta a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación soaked seeds. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas); el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y + 1)$ para su análisis. (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 5 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

III. Irradiación *seedlings*

En *without stress* (Fig.14A), las plantas del tratamiento 5 y 10 Gy obtuvieron un 16,5% más de crecimiento respecto al control (0 Gy). Igualmente, registraron las tasas de crecimiento más altas. Nuevamente, los ambientes de estrés por calor no tan solo no fueron estresantes, sino que dada la dinámica de los resultados fue difícil evaluar la existencia radio-protección. No obstante, vale la pena señalar que, por ejemplo, tanto para *mild-heat stress* (Fig.14B) como para *high-heat stress* (Fig.14C), las plantas expuestas a 5 Gy tuvieron un 14,5% y un 20,1% más de crecimiento, respecto a sus correspondientes controles. En relación con el estrés por salinidad, al comparar los controles de ambos grados de estrés con la dosis 0 Gy de *without stress* (Fig.14A), se logró apreciar que hubo una disminución significativa de la ganancia, lo que confirma que el estrés fue efectivo. Respecto a lo referente a radio-protección frente a salinidad, en *high-salt stress* (Fig.14E) se registró una protección por el radio-priming en la dosis 10 Gy.

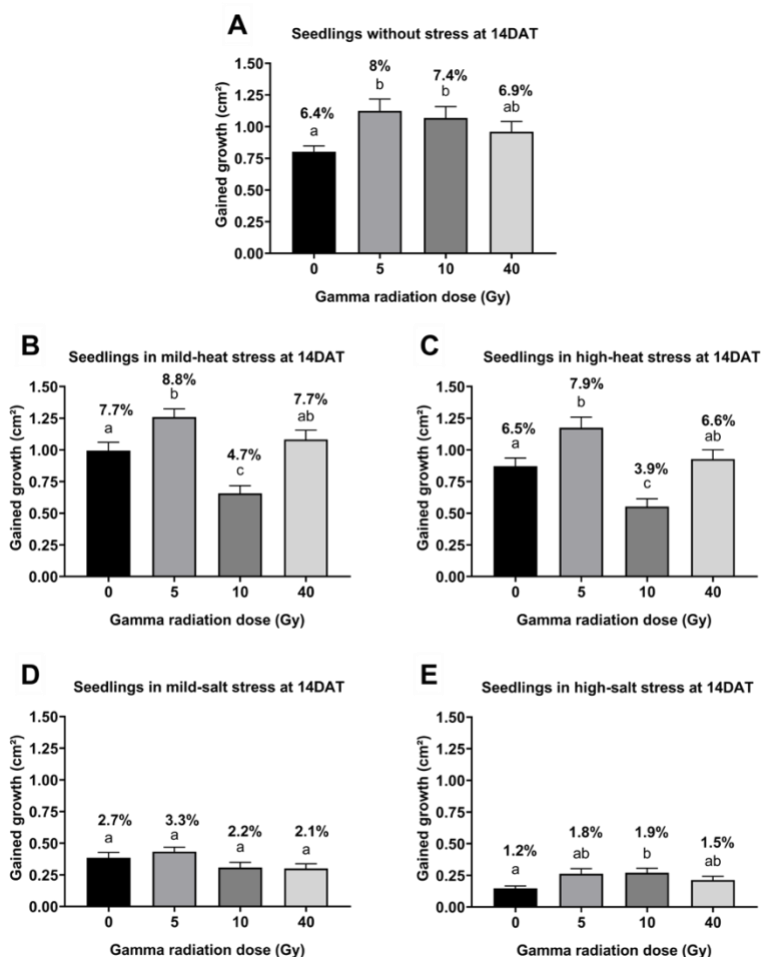


Figura 14. Efecto del *radio-priming* en roseta a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *seedlings*. (A) Plantas expuestas al *escenario without stress* (0mM NaCl-

0mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 5 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos se transformó con la función $y = \log(y)$ para su análisis. Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

Efecto del *radio-priming* en la longitud de la raíz

La Figura 15 muestra el largo de raíz principal de las plantas provenientes de los distintos tratamientos de irradiación antes del traspaso a condiciones de estrés. Al igual que en el parámetro de crecimiento anterior, se visualiza el efecto de la radiación ionizante sobre el parámetro a condiciones normales de crecimiento. Las plantas procedentes de las dosis 10 y 40 Gy presentaron menor crecimiento en la irradiación *dried seeds* (Fig.15A) en un 17 y 14%, respectivamente, a comparación con la dosis control (0 Gy). De la misma manera, el crecimiento de las plantas expuestas a 40 Gy fue menor en un 11% para la irradiación *soaked seeds* (Fig.15B) y 12% para *seedlings* (Fig.15C), en contraposición con sus correspondientes controles. No obstante, las plantas de la dosis 10 Gy registraron un crecimiento del 11% en la irradiación *soaked seeds* (Fig.15B). Por su parte, las plantas resultantes de la dosis 5 Gy tuvieron un 15% más de crecimiento en la irradiación *seedlings* (Fig.15C).

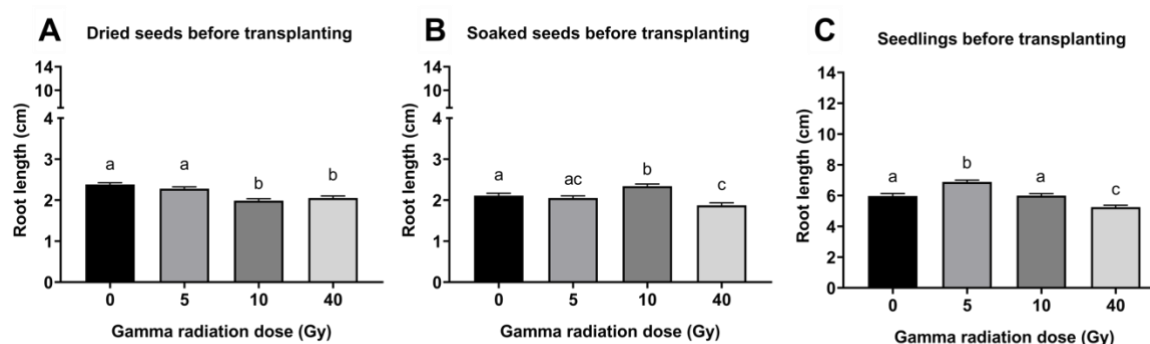


Figura 15. Efecto del *radio-priming* en la longitud de la raíz antes del traspaso en *Arabidopsis thaliana*. (A) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *dried seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica

Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Semillas que fueron irradiadas con el tratamiento *soaked seeds*; el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (C) Plántulas irradiadas con el tratamiento *seedlings*. Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

I. Irradiación *dried seeds*

En el ambiente *without stress* (Fig.16A), las plantas del tratamiento dosis 10 Gy obtuvieron un 7,6% más de crecimiento, y registraron la mayor tasa de crecimiento. En relación con el estrés por calor, los ambientes propuestos no fueron lo suficientemente estresantes para las plantas de *A. thaliana*, como queda en evidencia al comparar longitud de raíz para los tres tratamientos control (0 Gy) en condición control, *mild-heat stress* y *high-heat stress* (Fig.16A, Fig.16B y Fig.16C). Sin embargo, al comparar el efecto de la radiación en cada uno de los ambientes de estrés por calor, los análisis estadísticos y las tasas de crecimiento sí arrojaron diferencias significativas. En *mild-heat stress* (Fig.16C), las plantas sometidas a 5 Gy aumentaron el crecimiento en un 7,3% a comparación de su respectivo control. De igual manera, en *high-heat stress* (Fig.16D), las plantas provenientes de 5 y 10 Gy registraron aumentos en el crecimiento de 7,7% y 8,7%. A diferencia de los ambientes con estrés por calor, se pudo concluir que los ambientes salinos si fueron capaces de estresar a las plantas de *A. thaliana*, tras comparar los controles de los ambientes *without stress*, *mild-salt stress* y *high-salt stress* (Fig.16A, Fig.16D y Fig.16E). En lo que respecta radio-protección, ninguna dosis genera un efecto positivo sobre el parámetro evaluado. Al igual que en el parámetro área de roseta, el incremento de dosis afecta aún más al crecimiento de las plantas en *high-salt stress* (Fig.16E).

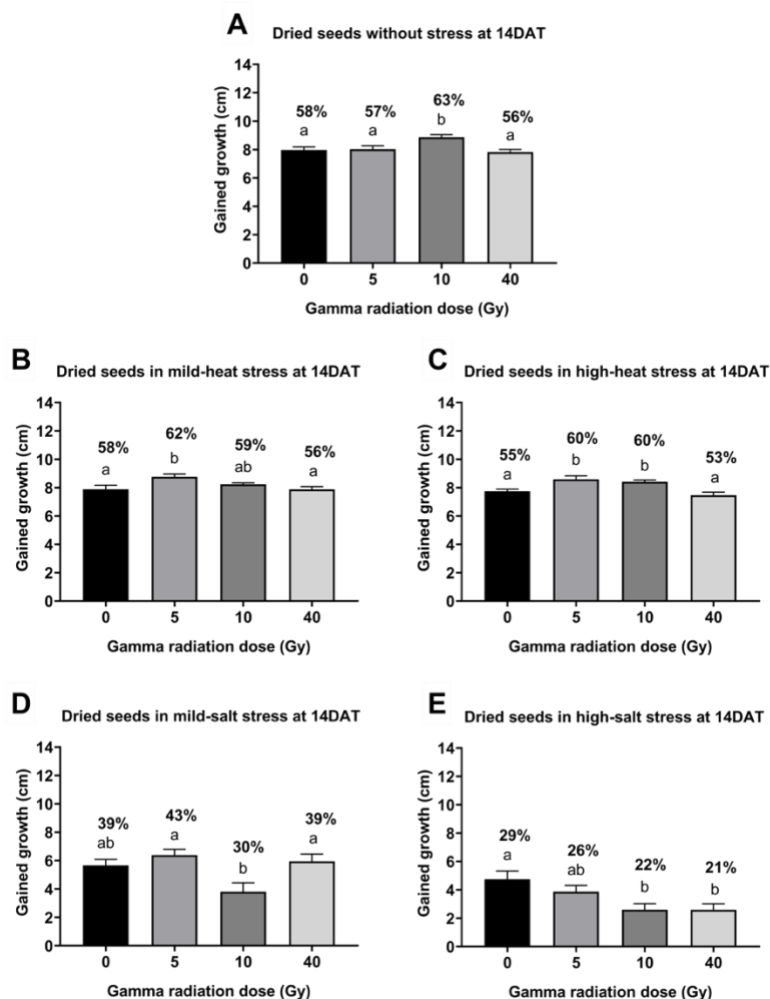


Figura 16. Efecto del *radio-priming* en raíz a 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *dried seeds*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 5 horas); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo

transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

II. Irradiación *soaked seeds*

Las plantas de los tratamientos 5 y 10 Gy obtuvieron un 11,5% y 10,4% más de crecimiento en *without stress* (Fig.17A). Asimismo, ambas dosis obtuvieron mayores tasas de crecimientos. Respecto al estrés por calor, al igual que la irradiación anterior, los ambientes no fueron lo suficientemente estresantes para las plantas de *A. thaliana*. Es más, en *high-heat stress* (Fig.17C), las plantas provenientes de la dosis 5 Gy tuvieron un crecimiento del 7,9% respecto a su control (0 Gy). Por otro lado, los ambientes salinos lograron estresar a las plantas de *A. thaliana* y registrar radio-protección. En concreto, en el ambiente *high-salt stress* (Fig.17E), las plantas sometidas a la dosis 5 Gy crecieron un 29,7% más a comparación de su control.

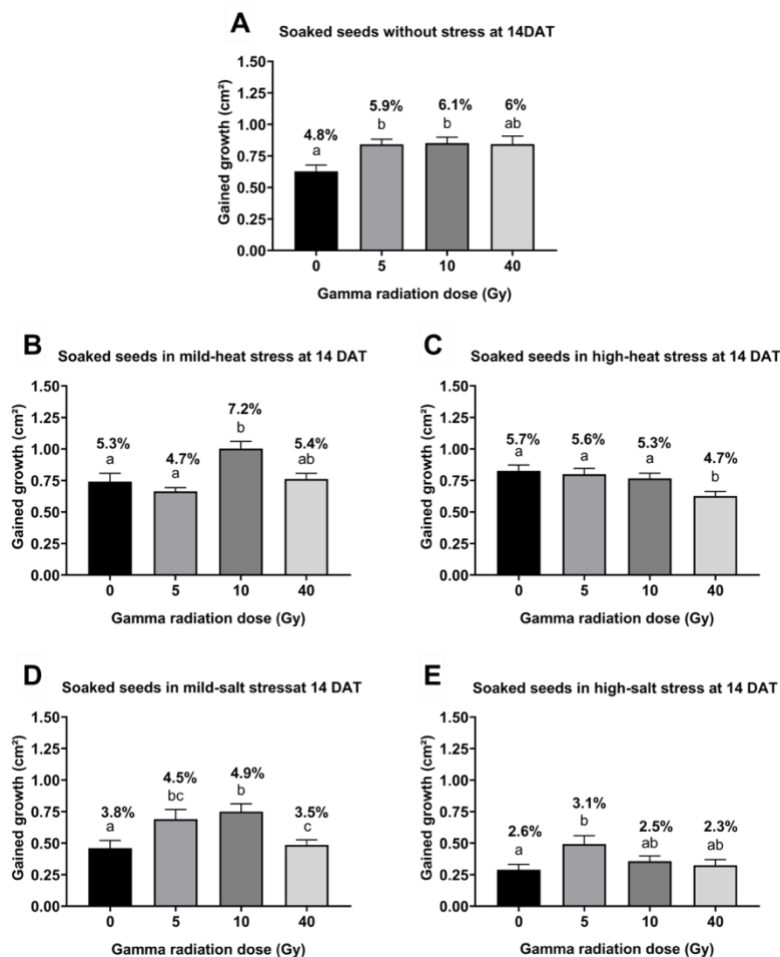


Figura 17. Efecto del *radio-priming* en raíz a 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *soaked seeds*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 5 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

III. Irradiación *seedlings*

En *without stress* (Fig.18A), las plantas expuestas a la dosis 40 Gy crecieron un 46% más respecto al control (0 Gy). Por otro lado, ambos grados de estrés por calor fueron lo suficientemente estresantes para las plantas de *A. thaliana*, en comparación con las otras dos irradiaciones. Junto con esto, el escenario *mild-heat stress* (Fig.18B), registró radio-protección para las plantas sometidas a 40 Gy. Asimismo, en *high-heat stress* (Fig.18C) se registraron protecciones para las plantas de los tratamientos 5 y 40 Gy. En relación con los escenarios de estrés salino, los análisis estadísticos y las tasas de crecimiento no arrojaron diferencias significativas. Esto concluye que no se logró obtener radio-protección a ninguna dosis utilizada.

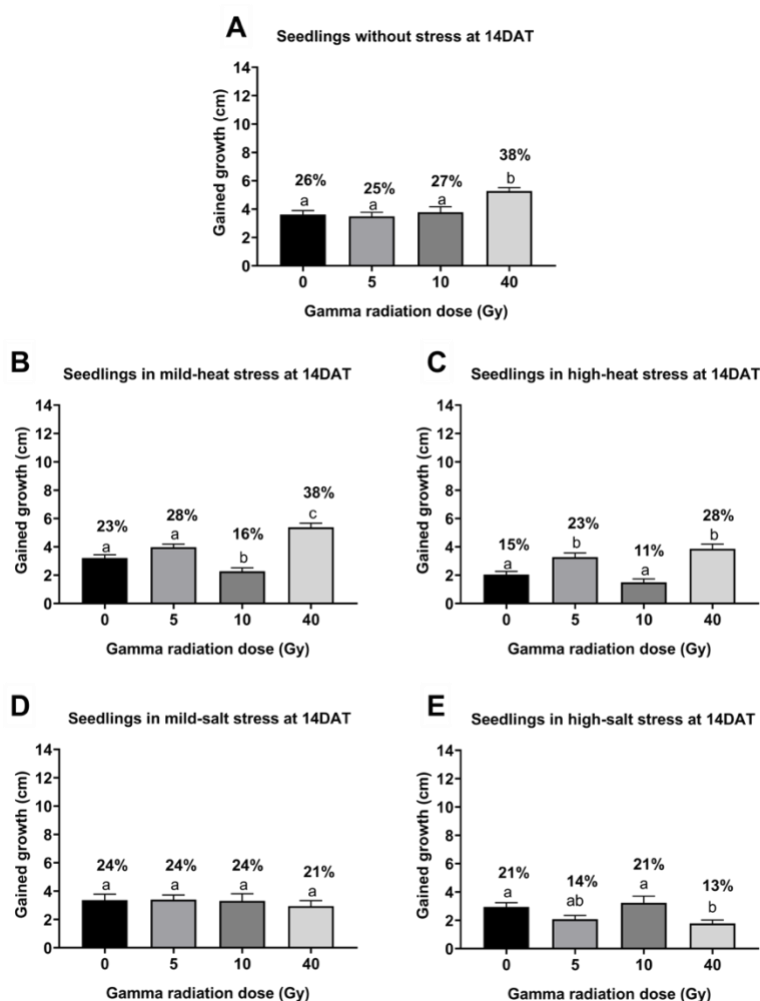


Figura 18. Efecto del *radio-priming* en raíz a 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *seedlings*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C

por 5 horas); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

Efecto del *radio-priming* en la eficiencia máxima del fotosistema II

I. Irradiación *dried seeds*

En relación con los análisis estadísticos, ningún escenario de los ambientes en estudio mostró diferencias significativas entre las medias de las dosis utilizadas para la irradiación *dried seeds* (Fig.19). En cuanto al valor óptimo de la fluorescencia de la clorofila, los ambientes *without stress* (Fig. 19A) y *mild-salt stress* (Fig.19D) presentaron tendencias positivas al incremento de dosis. Las plantas de las dosis 10 y 40 Gy lograron valores más cercanos al óptimo de la fluorescencia de la clorofila respecto al control (0 Gy). Por el contrario, en los gráficos de *mild-heat stress* (Fig.19B), *high-heat stress* (Fig.19C) y *high-salt stress* (Fig.19E) se visualizaron tendencias negativas al incremento de dosis, particularmente en la dosis 40 Gy.

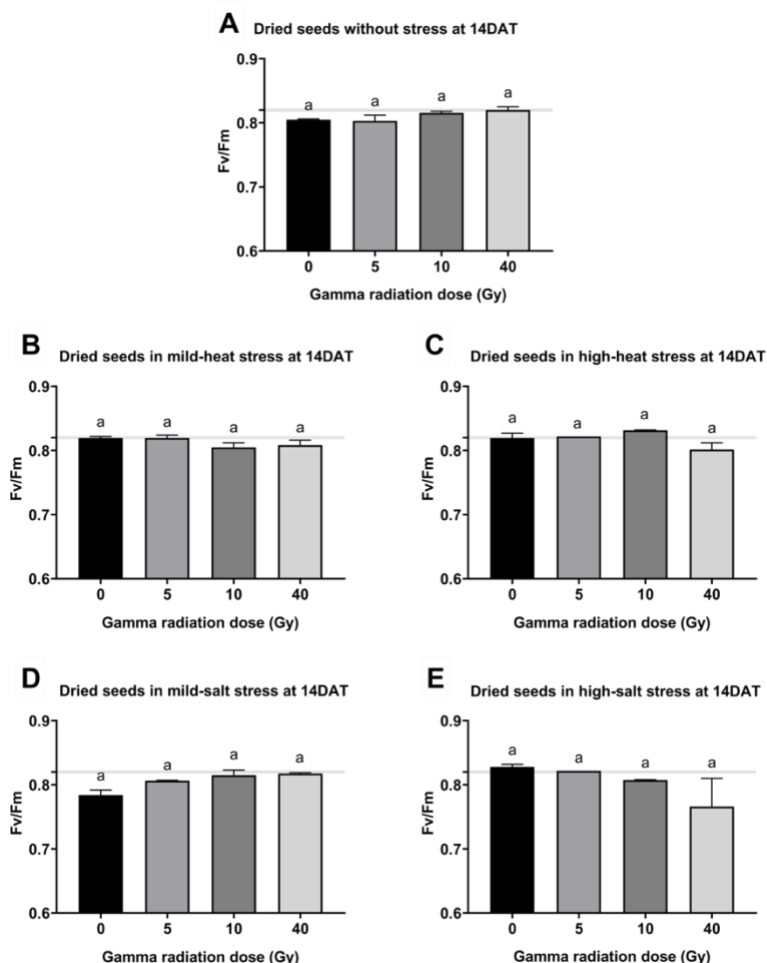


Figura 19. Eficiencia máxima del fotosistema II a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *dried seeds*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

II. Irradiación *soaked seeds*

Los análisis ANOVA de los ambientes en estudio no presentaron diferencias significativas entre las medias de las dosis utilizadas para la irradiación *soaked seeds* (Fig.20). Acerca del óptimo de la fluorescencia de la clorofila, el gráfico *without stress* (Fig.20A) mostró una tendencia positiva al incremento de dosis, pues las plantas de los tratamientos 5, 10 y 40 Gy lograron valores cercanos al óptimo a diferencia del control (0 Gy). En los demás gráficos, se pueden ver tendencias constantes al incremento de dosis.

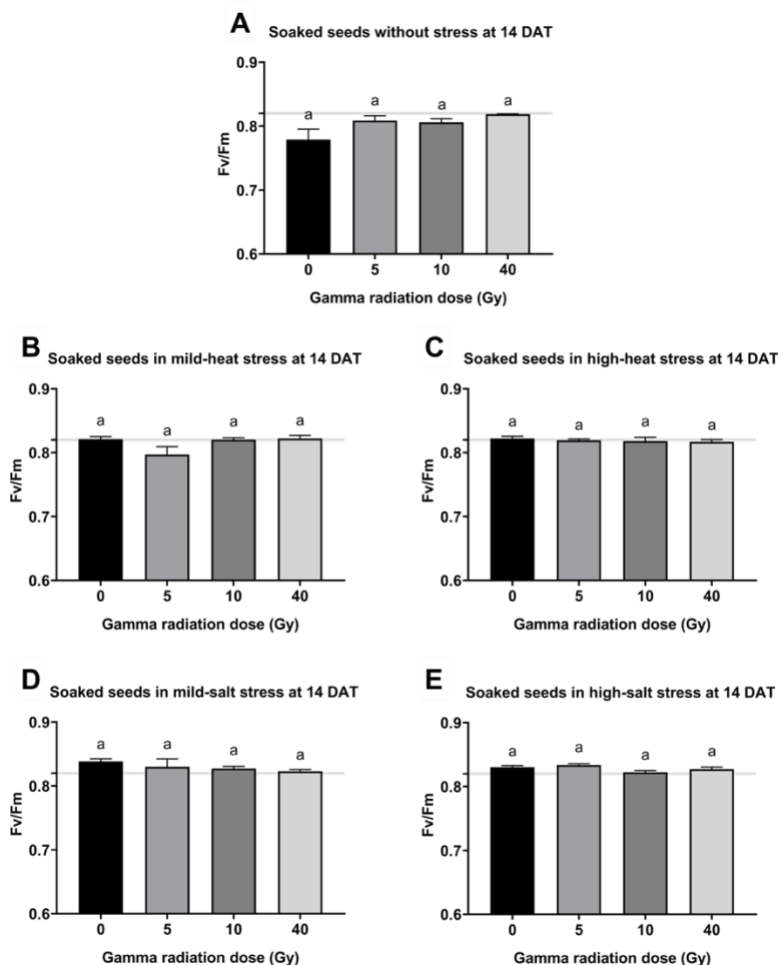


Figura 20. Eficiencia máxima del fotosistema II a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *soaked seeds*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica

Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

III. Irradiación *seedlings*

Los análisis ANOVA de los ambientes tampoco se presentaron diferencias significativas entre las medias de las dosis utilizadas para la irradiación *seedlings* (Fig.21). En relación con la fluorescencia de la clorofila, el gráfico *without stress* (Fig.21A) presentó una tendencia constante al incremento de dosis, donde ninguna dosis alcanza el óptimo. En los gráficos de estrés por calor, *mild-heat stress* (Fig.21B) mostró una tendencia constante al incremento de dosis y *high-heat stress* (Fig.21C), también se registró una tendencia constante. En *mild-salt stress* (Fig.21D), las plantas expuestas a 5 y 40 Gy alcanzaron el óptimo. Finalmente, en *high-salt stress* (Fig.21E), los tratamientos de plantas que más se acercaron al óptimo fueron 5 y 10 Gy.

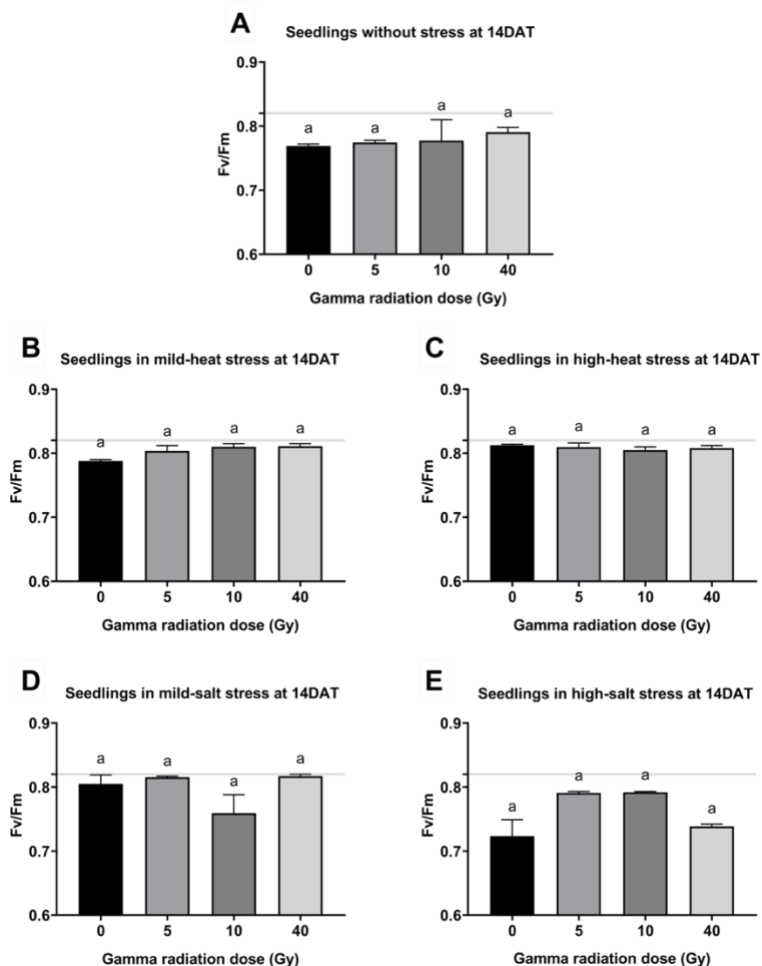


Figura 21. Eficiencia máxima del fotosistema II a los 14 días después del traspaso en *Arabidopsis thaliana* con la irradiación *seedlings*. (A) Plantas expuestas al escenario *without stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 22°C). (B) Plantas expuestas al escenario *mild-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (C) Plantas expuestas al escenario *high-heat stress* (0mM NaCl-0mM CaCl₂ a 40°C por 3 horas). (D) Plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* (50mM NaCl-5mM CaCl₂ a 22°C); el conjunto de datos no cumple con normalidad ni se pudo transformar, por lo que se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para identificar diferencias significativas entre los tratamientos mediante la prueba de Dunn ($p \leq 0,05$). (E) Plantas expuestas al escenario *high-salt stress* (100mM NaCl-10mM CaCl₂ a 22°C). Los datos son medias $\pm$ SE de 2-4 réplicas biológicas por tratamiento, cada réplica biológica considerada 16-32 plantas como réplicas técnicas. Letras diferentes indican diferencias significativas, mientras que las mismas las letras no muestran diferencias (ANOVA de una vía; $p \leq 0,05$). Los porcentajes sobre las barras representan la tasa de crecimiento.

VI. DISCUSIÓN

Objetivos 1 y 2

A lo largo de la evolución las plantas han desarrollado estrategias para defenderse de factores estresantes (Xie et al. 2019). Una variación no controlada de las condiciones climáticas en un entorno provoca un desequilibrio en las relaciones entre los seres vivos y su manera de influir sobre el ambiente (Pacheco et al., 2017). Factores climáticos como salinidad, temperaturas extremas, presencia de metales pesados, contaminantes atmosféricos y enfermedades originan estrés oxidativo en las plantas (Choudhury et al., 2017; Pacheco et al., 2017; Xie et al. 2019). Uno de los desafíos de la biología vegetal actual es comprender a cabalidad el funcionamiento de las plantas bajo estrés, es decir, entender cómo las plantas responden a dosis fluctuantes de algún estrés (Calabrese y Mattson, 2017). Tener conocimiento sobre la relación de dosis-respuesta puede proporcionar valiosa información sobre la adaptación y la perspectiva de supervivencia vegetal, aportando así a la optimización de la productividad y los rendimientos (Agathokleous, 2018; Agathokleous et al., 2019; Calabrese y Mattson, 2017). En toxicología ambiental, el concepto de hormesis explica, a través del modelo de umbral bifásico de dosis-respuesta, que la exposición a dosis bajas de un estresor induce la aparición de respuestas adaptativas que protegen a los organismos de los efectos dañinos de las amenazas ambientales, lo que contrarresta los conocimientos dominantes sobre modelos lineales de dosis-respuesta (Agathokleous, 2018; Agathokleous y Calabrese, 2019; Schirmmacher, 2021).

Por ejemplo, es sabido que el uso de radiación ionizante a grandes dosis produce alteraciones en el crecimiento y desarrollo de las plantas, además, de la disminución de la capacidad reproductiva y alteraciones tanto metabólicas como genómicas (Vanhoudt, 2014). A pesar de esto, la inducción de mutaciones por IR se ha utilizado por años en la industria agrícola, como técnica de mejoramiento genético tradicional para mejorar la calidad del producto, incrementar los rendimientos, mejorar la resistencia al cambio climático y la tolerancia al ambiente (IAEA, 2022). No obstante, esta tecnología suele ser muy lenta, laboriosa y costosa en tiempo, espacio y recursos (Oliveira et al., 2021). La investigación sobre los posibles usos de la radiación ionizante a bajas dosis es escasa y, por años, no se han registrado avances importantes en la materia. La respuesta radio-hormética se puede entender como una estrategia biológica evolutiva que le permite al organismo aclimataarse a las bajas dosis de la IR y responder a un estrés subsecuente de mejor manera (Calabrese, 2016). Este tipo de técnicas puede aplicarse al sector agrícola para mejorar la resistencia a estrés biótico, mitigar las consecuencias del cambio climático y aumentar la productividad a costos más bajos, aportando así a la sostenibilidad (Agathokleous y Calabrese, 2019).

Contenido de Agua

Las semillas presentan mecanismos de adaptación para sobrevivir a las condiciones de estrés (Oliveira et al., 2021). No obstante, técnicas como la radio-hormesis pueden preparar a las semillas a enfrentar situaciones que normalmente serían dañinas o letales (Oliveira et al., 2021). La radiosensibilidad de las semillas depende tanto de las características genéticas de la especie como de la humedad de esta misma (Geras' kin et al., 2017). En este último aspecto, la literatura señala que las semillas secas son más resistentes a los efectos de la IR por su bajo contenido relativo de agua (Geras' kin et al., 2017). Por otro lado, las semillas que no están completamente desarrolladas y que están germinando son más sensibles a la radiación gamma que las semillas secas, ya que el contenido de agua es más alto y las estructuras que afectan la capacidad iónica pueden alcanzar más fácilmente el embrión (Qin et al. 2007). Lo anterior se explica porque la irradiación en la molécula de ADN es más propensa a formar radicales libres en un ambiente húmedo que un ambiente seco (Donaldson, Nilan y Konzak, 1979; Puerta y Morales, 2020). Esto también se afirma en Qin et al. (2007), donde se señala que las semillas embebidas irradiadas por protones son más sensibles que las semillas secas, y que el principal objetivo de la irradiación es el meristemo apical del brote debido al contenido de células no diferenciadas. Por otro lado, Ohba (1961) en su estudio sobre la radiosensibilidad y contenido de agua en semillas de pino concluye que las semillas deben tener un contenido específico de agua para su mejor rendimiento, puesto que las semillas con los índices de contenido de agua más extremos tuvieron porcentajes germinativos más bajos y alta mortalidad de plántulas.

En esta investigación se propuso evaluar la respuesta de *A. thaliana* a dosis crecientes de IR según tres metodologías que diferían en la etapa de irradiación de tejido y en el contenido relativo de agua. Para lograr esto, los efectos de la IR se midieron a largo plazo y respecto a las curvas de dosis-respuesta obtenidas en los parámetros área de roseta y largo de raíz. En la Figura 10, se puede visualizar que la irradiación *dried seeds* no tiene el mismo comportamiento en la curva dosis-respuesta. La forma de las curvas de las irradiaciones *soaked seeds* y *seedlings* se comportan según lo reportado en la hormesis (Fig.1), con una zona radio-hormética en las dosis menores a 40 Gy. Por el contrario, la curva de la irradiación *dried seeds* está en forma de U con una estimulación en la dosis 80 Gy. Las respuestas en forma de U pueden entenderse como la activación de una serie de mecanismos necesarios para proteger al organismo del entorno estresante (Zhang et al., 2008). Esta activación conlleva un costo energéticamente significativo a nivel celular, lo que se traduce en la aparición de células estresadas o adaptadas (Zhang et al., 2008). En otras palabras, se produce una sobrecompensación entre estos estados (estresado-adaptado) que interrumpen la homeostasis, por lo que la forma de U en puntos específicos refleja la recuperación (o resiliencia) del organismo mediante

una reparación rápida frente al efecto del estresor (Calabrese y Baldwin, 1998; Zhang et al., 2008). Considerando que una semilla de *A. thaliana* madura seca tiene aproximadamente un contenido de agua del 7% (Baud et al., 2002) se puede concluir que la irradiación *dried seeds* tuvo menos sensibilidad a la exposición de las dosis crecientes elegidas para hacer las curvas de dosis-respuesta en *A. thaliana*. Junto con esto, se puede explicar la mayor sensibilidad en las irradiaciones *soaked seeds* y *seedlings* ya que, por una parte, la semilla embebida fue irradiada en un mayor contenido de humedad que la semilla irradiada en seco; y, por la otra, el embrión presenta mayor contenido de agua que una semilla, por lo que sus estructuras se ven más afectadas por la ionización de la materia (Blagojevic, 2015; Puerta y Morales, 2020; Qin et al., 2007).

Germinación

Hasta el cambio ambiental más sutil puede afectar el proceso de germinación de la semilla y, por consiguiente, afectar el crecimiento y productividad de la futura planta (Wojtyla, 2016). En este ámbito, los factores de estrés abiótico son capaces de interrumpir múltiples interacciones entre moléculas señalizadoras, fitohormonas y moléculas oxidativas que pueden provocar retrasos o aceleramientos de los procesos de germinación o crecimiento temprano (Babina et al., 2020; Vishal y Kumar, 2018; Wojtyla, 2016). Por ejemplo, en el trabajo de Babina et al. (2020) se encontró evidencia sobre alteraciones significativas en la germinación a dosis mayores a 100 Gy. Pero, también se ha reportado en distintos estudios que la germinación de semillas no siempre es afectada por el incremento de la radiación gamma (Barescut et al., 2009; Wi et al., 2007). En el caso de los resultados previamente expuestos (Fig.6), no se obtuvieron cambios significativos en el porcentaje de germinación, ya sea tanto para las dosis utilizadas como para los distintos tipos de irradiación estudiados. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que en este estudio solo usó porcentaje de germinación como parámetro de medición. En los estudios de Babina et al. (2020) y Gutiérrez et al. (2021), se nombran distintos parámetros para evaluar la dinámica de germinación como el tiempo, la capacidad germinativa, energía germinativa, la homogeneidad y la sincronía de germinación.

Crecimiento

Los parámetros morfométricos de las plantas se consideran indicadores integrales de la respuesta a la radiación ionizante, pues permiten comprender tanto las reacciones como las interacciones de las partes del organismo vegetal (Gudkov et al., 2019). A lo largo de esta investigación se ha evidenciado que la exposición a dosis bajas de IR incluye una gran variedad de efectos estimulantes que de ocurrir en una especie comercial podrían ser de interés agrícola (Agathokleous y Calabrese, 2019). No obstante, es importante mencionar que los efectos no tan solo están vinculados a la dosis, sino también

a factores como la especie, la edad de la planta, los cultivares, la fisiología y el tamaño y estado del genoma de la planta (De Micco et al. 2011). Por ejemplo, Babina et al. (2020) observó que la exposición de IR en semillas puede inducir el mismo efecto estimulante, o incluso más pronunciado, que una exposición en otra etapa del desarrollo vegetativo.

En la práctica, la hipótesis de la radio-hormesis es que a bajas dosis se inducirá estimulación en el crecimiento, ya sea por los cambios producidos en la red de señalización hormonal o por el aumento antioxidante en las células para superar los factores estresantes (Wi et al., 2007). Además de esto, la respuesta fisiológica no tan solo depende del contenido específico de las fitohormonas, sino también de la mantención del equilibrio (Gudkov et al., 2019; Kohli et al., 2013). Geras' kin et al. (2017) demostraron que el equilibrio general de las fitohormonas cambia en las plántulas de cebada dependiendo de la exposición de IR en semillas. La investigación explica que cuando las semillas son irradiadas a dosis bajas, la producción de hormonas promotoras del crecimiento se estimula, y cuando las semillas son irradiadas a dosis altas, se estimula la producción de la hormona inhibidora del crecimiento ABA (Bitarishvili et al., 2018). Particularmente en *A. thaliana*, se registró que las altas dosis de IR inducen la producción de ABA e incrementan la actividad antioxidante y de ROS (Babina et al., 2020). Por el contrario, en las dosis bajas, los genes relacionados con la biosíntesis de ABA se regulaban positivamente, y tanto los genes correspondientes a las vías catabólicas como al transporte de la hormona, lo hacen de manera diferencial (Babina et al., 2020). Por su parte, Qi et al. (2015) demostró con mutantes ABA en *A. thaliana* que la susceptibilidad a la hormona es más importante en la respuesta al crecimiento que la misma biosíntesis.

A grandes rasgos, los resultados obtenidos (Fig.7, 8 y 9) muestran promoción de crecimiento a dosis menores de 40 Gy, lo cual es similar a lo expuesto en Babina et al. (2020). En ese estudio se logra concluir que las dosis de IR menores a 50 Gy no son lo suficientemente dañinas para provocar efectos negativos en *A. thaliana*, respecto a las plantas no irradiadas. Gudkov et al. (2019) también establece un rango de dosis promotoras de crecimiento para *A. thaliana*, el cual señala que el rango hormético es de 5-20 Gy si se irradian semillas, y 1-5 Gy si son plantas en etapa vegetativa. Las tasas de crecimientos de la irradiación *dried seeds* (Fig.7) demuestran que hasta 40 Gy se obtuvieron crecimientos finales muy similares a los registrados por las plantas no irradiadas, a pesar de que significativamente no visualiza promoción de crecimiento a ninguna dosis. Por su parte, las tasas de crecimientos de la irradiación *soaked seeds* (Fig.8) fueron significativamente mayores que las plantas no irradiadas a las dosis 10 y 40 Gy, tanto en el largo de raíz como en el área de roseta. En la irradiación *seedlings* (Fig.9) ocurre lo mismo que en la irradiación *soaked seeds* (Fig.8), pero de

manera menos pronunciada. Estos resultados son interesantes, pues se puede concluir que la utilización de semillas sea la opción más adecuada para estudiar la exposición a bajas dosis, sobre todo considerando una posible replicación en el sector agrícola (Babina et al., 2020). A nivel de parámetros, las raíces parecen tener más sensibilidad a la radiación ionizante que las rosetas. Lo anterior, puede explicarse porque las raíces han reportado cambios más pronunciados en la expresión génica en respuesta al estrés y, además, son un tejido con gran contenido de agua (Gudkov et al., 2019; Vanhoudt, 2014). Las rosetas, por su parte, tienen mayor resistencia a la IR debido a que el sistema antioxidante en esas zonas debe proteger a los tejidos del daño foto-oxidativo producido, en parte, por la fotosíntesis (Blagojevic, 2015; Puerta y Morales, 2020; Qin et al., 2007).

Fluorescencia de la Clorofila

Las plantas se someten constantemente a intensidades de luz cambiante, por lo que los fotosistemas (PSI y PSII) tienen la función de captar eficientemente la energía lumínica y proteger el aparato fotosintético del daño foto-oxidativo provocado por la formación de ROS (Niyogi, 1999; Vanhoudt, 2014). Un aumento exacerbado en la producción de ROS demuestra la presencia del estrés oxidativo en la planta, el cual se expresa principalmente en la capacidad fotosintética de la clorofila (Ustin et al., 1998). Bajo este contexto, las hojas de la roseta utilizan la energía lumínica absorbida por la clorofila en tres procesos: como energía productiva que se utiliza en el proceso de fotosíntesis, en transmisión por disipación en forma de calor o en la emisión de luz en forma de fluorescencia (Puerta y Morales, 2020; Vanhoudt, 2014). La fluorescencia de la clorofila y la transmisión por disipación son parámetros que se utilizan para establecer el nivel de estrés dentro de un organismo, pues ambos son capaces de demostrar que la eficiencia fotosintética de la planta no se encuentra dentro de los parámetros óptimos (Maxwell y Johnson, 2000, Niyogi, 1999). En relación con la eficiencia fotosintética de PSII, la literatura respalda que a niveles más bajos de radiación los valores de la tasa de fluorescencia variable de la clorofila aumentan (Blagojevic, 2015; Vanhoudt, 2014). Lo anterior, se respalda con los estudios de Kim et al. en 2005 y 2010, donde se concluye que la capacidad de captación de la luz del PSII permanece intacta dentro de un rango de radiación en varias especies distintas de plantas (Babina et al., 2020).

Respecto a los datos obtenidos por el equipo FluorPen FP110 (Fig.11), no existen diferencias significativas entre las dosis estudiadas para ninguna irradiación según la razón F_v/F_m , la cual es un parámetro proporcional a la máxima eficiencia fotoquímica primaria de las hojas (Cerrillo et al., 2004; Demmig-Adams, 1992). A pesar de que el valor óptimo de F_v/F_m en *A. thaliana* es 0,82, ninguna dosis alcanzó este valor para ninguna irradiación. Sin embargo, los valores de F_v/F_m se mantuvieron

dentro del rango óptimo 0,79 y 0,84 registrado en hojas (Cerrillo et al., 2004; Demmig-Adams, 1992). La irradiación *dried seeds* (Fig.11A) mostró una tendencia negativa al incremento de dosis. La irradiación *soaked seeds* (Fig.11B) mostró una tendencia positiva al incremento de dosis hasta la dosis 200 Gy, que la curva decae. La irradiación *seedlings* (Fig.11C) también mostró una tendencia negativa al incremento de dosis, sin embargo, alcanzó valores muy cercanos al óptimo en 10 Gy. En relación con esto se puede concluir que, generalmente, el funcionamiento fotosintético de las plántulas en las distintas irradiaciones no se vio alterado por el incremento de dosis probablemente debido a la robustez del sistema fotosintético de especies radio-resistentes como *A. thaliana* (Babina et al., 2020; Vanhoud et al., 2014). Cabe mencionar que el efecto de la IR tiene una dependencia con el tiempo, pues el contenido de la clorofila disminuye a las pocas semanas de una irradiación dosis altas, por lo que es probable que se debió haber esperado al menos una semana más para visualizar el cambio en el contenido de la clorofila (Fan et al., 2014). Por su parte, Gudkov et al. (2019) explica que, con el aumento de las dosis de IR, el contenido de pigmentos disminuirá (clorofilas y carotenoides) y, en el caso de las dosis bajas de IR, el contenido de pigmentos puede mantenerse o aumentar (Gudkov et al., 2019).

Objetivos 3 y 4

Efecto de la radiación en otros factores abióticos

En los ecosistemas naturales, las plantas están continuamente respondiendo a múltiples factores de estrés ambiental (Geras'kin et al., 2017; Kovalchuk et al., 2004). La adaptación es un proceso sistemático que se desarrolla en todos los niveles del organismo (Shabala et al., 2015; Surova et al., 2016). Para que se desencadene una respuesta adaptativa es necesaria la coordinación entre los procesos fisiológicos, que su vez dependen de la traducción de señales (Gudkov et al., 2019; Shabala et al., 2015; Surova et al., 2016). Se ha evidenciado una reducción de los efectos negativos de algunos factores abióticos en combinación con radiación ionizante (Alikamanoglu et al., 2011; Haleem et al., 2012). Por ejemplo, los resultados del estudio de Qi et al. (2015) sugieren que el uso de radiación ionizante a dosis bajas disminuye el estrés abiótico por metales pesados en *A. thaliana*, por medio de la modulación de respuestas fisiológicas y el control de los niveles de expresión génica asociados con la resistencia a los metales pesados.

El efecto positivo de la radiación ionizante llega hasta cierto umbral, ya que por encima se ha observado una potencialidad de efectos dañinos (Gudkov et al., 2019). Como se nombró anteriormente, el efecto positivo de la IR interviene los parámetros morfométricos de las plantas por medio de la mejora en el sistema antioxidante, el que también normaliza el contenido de pigmentos

fotosintéticos, la absorción y transporte, entre otros (Gudkov et al., 2019). Estudios sobre *priming* sugieren que los ROS tienen un papel primordial en la aclimatación de las plantas, puesto que, junto con otras especies reactivas, regulan la señalización, la activación de genes y de mecanismos de tolerancia (Agathokleous et al., 2019). Agathokleous et al. (2019) explican que se necesita un nivel basal de ROS para mantener la homeostasis; una dosis baja de ROS por encima del nivel basal para alcanzar la máxima capacidad de plasticidad biológica; y una dosis más allá de los límites de la plasticidad biológica para perjudicar a la planta. Respecto a estudios para identificar la cascada de señalización responsable de la regulación de la expresión génica bajo los efectos de la IR, se ha visto intervención de las proteínas quinasa dependiente de fosfoinositol-1, quinasa activada por mitógeno y fosfoinositida fosfolipasa C (Gudkov et al., 2019). Sobre el efecto de la IR en señales remotas, se han visto cambios en el potencial de membrana inducidos por IR, lo que hace suponer que estas modificaciones en las señales a distancia son un mecanismo esencial de adaptación en estrés combinado (Sevriukova et al., 2014).

Tras los resultados de los objetivos 1 y 2, se estableció un protocolo que permitiera determinar el efecto estimulante de la zona hormética de la radiación ionizante utilizada como *radio-priming* en *A. thaliana* expuesta los ambientes con estrés salino y con estrés por calor. Para lograr esto, se midieron los parámetros área de roseta, largo de raíz y fluorescencia de la clorofila. La irradiación *dried seeds* (Fig.13 y Fig.17) solo reportó promoción de crecimiento foliar en las plantas sometidas a 40 Gy en el ambiente *without stress*. En los demás ambientes, no se evidenció nada significativo. Acerca del largo de raíz, las plantas del tratamiento 10 Gy obtuvieron mayor crecimiento en el ambiente *without stress*. No se logró evidenciar estrés por calor en las plantas no irradiadas, pero sí aumento en el crecimiento. Las plantas provenientes de la dosis 5 Gy presentaron mayor crecimiento para escenario *mild-heat stress* mientras que, en el escenario *high-heat stress*, fueron las plantas de los tratamientos 5 y 10 Gy, las que mostraron efectos positivos. En la irradiación *soaked seeds* (Fig.14 y Fig.18), la promoción de crecimiento en el ambiente *without stress* lo obtuvieron las plantas de las dosis 5 y 10 Gy para el área foliar; y para el largo de raíz, las plantas de la dosis 40 Gy. En los ambientes de estrés por calor, no se logró evidenciar estrés por calor en las plantas no irradiadas. Es más, se evidenció una promoción de crecimiento en el área foliar de las plantas expuestas a 10 Gy en *mild-heat stress*. Asimismo, para el largo de raíz, en el ambiente *high-heat stress* hubo una promoción de crecimiento en las plantas sometidas a 5 Gy. En cuanto a los ambientes de estrés salino, se indujo radio-protección en el área foliar de las plantas expuestas al escenario *mild-salt stress* a los 5 y 10 Gy; y para escenario *high-salt stress*, la radio-protección se registró en las plantas provenientes de la dosis 10 Gy. En el largo de raíz, las plantas expuestas a 10 Gy fueron las únicas que presentaron radio-protección en el

escenario de *high-salt stress*. Para la irradiación *seedlings* (Fig.15 y Fig.19), la promoción de crecimiento en el ambiente *without stress* también lo alcanzaron las plantas originarias de los tratamientos 5 y 10 Gy para el área foliar; y para el largo de raíz, las plantas sometidas a 40 Gy. A comparación de las otras dos irradiaciones, se logró evidenciar estrés por calor en las plantas no irradiadas. En relación con esto, se obtuvo mayor crecimiento en el área foliar de ambos grados de estrés para las plantas provenientes de las dosis 5 Gy. Por otro lado, en el largo de raíz, las plantas expuestas a 5 Gy obtuvieron radio-protección en el escenario *mild-heat stress*; y las plantas de los tratamientos 5 y 40 Gy también lo hicieron para el escenario *high-heat stress*. Finalmente, en los ambientes salinos, solo se registró radio-protección en el escenario *high-salt stress* en las plantas sometidas a 10 Gy. En conclusión, por lo general, las dosis más estimulantes en los ambientes estresantes fueron 5 y 10 Gy, tanto para el área foliar como para el largo de raíz. Los resultados sugieren que la exposición a dosis inferiores a 5 Gy protege a las plantas, contribuyendo a su tolerancia a otros estreses, particularmente en semillas embebidas expuestas a estrés salino. Respecto a los datos obtenidos por el equipo FluorPen FP110 (Fig.20, 21 y 22), tampoco existen diferencias significativas entre las dosis estudiadas para ninguna irradiación en ningún ambiente de estudio. Sin embargo, se obtuvieron varios gráficos donde se alcanzó el valor óptimo de Fv/Fm en *A. thaliana*.

Por otro lado, aunque el estrés por calor no fue lo suficientemente estresante, generó una promoción de crecimiento por sobre las plantas no irradiadas, lo que hace pensar que el calor y la radiación pueden compartir rutas metabólicas. En la literatura se ha visto correlación entre la inducción de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* en inglés; HSP) y la radio-resistencia (Calini et al., 2003). La desnaturalización de proteínas provocadas por la acción indirecta de la IR produce una alteración dentro de la homeostasis, lo que activa la inducción de HSP para mantener la protección celular (Kozeko et al., 2015). Las HSP son proteínas chaperonas citoprotectoras que se activan para combatir los efectos negativos sobre las proteínas causados por factores estresantes como la temperatura (Genest et al., 2019). En particular, las HSP90 y HSP70 están involucradas con la homeostasis de las proteínas y participan en casi todos los procesos celulares (Genest et al., 2019). En *A. thaliana*, se ha visto que la sobreexpresión de HSP70 da como resultado mayor resistencia a factores de estrés, incluida la radiación ionizante (Calini et al., 2003; Wang et al., 2004). La sobreexpresión de HSP70 actúa como un mecanismo radio-protector frente a un primer evento de daño al ADN y aumenta conforme pasa el tiempo (Genest et al., 2019). Las altas concentraciones de la chaperona promueven el desarrollo de la respuesta radio-adaptativa a través de la regulación del ciclo celular, los procesos de reparación del ADN y apoptosis, entre otros (Park et al., 2000). Asimismo, la HSP90 también puede interactuar frente al estrés, pues esta chaperona es capaz de

amortiguar la expresión fenotípica de las alteraciones genéticas producidas por la radiación (Kozeko et al., 2015).

Con esta investigación se ha podido evaluar el efecto del *radio-priming* en *A. thaliana*, dando como resultado una posible metodología de irradiación que puede ser utilizada como herramienta para mejorar la tolerancia de los cultivos a los desafíos ambientales o como aporte investigativo del uso de radio-hormesis. Esta tesis concluye sugiriendo que la irradiación de semillas embebidas a bajas dosis puede usarse como un mecanismo de pre-acondicionamiento para inducir tolerancia al estrés salino en semillas de *A. thaliana*. El paso siguiente es analizar el funcionamiento bioquímico y molecular del *radio-priming* expuesto, además de hacer una detección de presencia de mutaciones. Por otro lado, podría ser necesario evaluar el “post-acondicionamiento” del *priming*, pues algunos estudios señalan que, en ocasiones, se necesita repetir la aplicación del *priming* para mantener la capacidad de tolerancia al estrés (Agathokleous et al., 2019). Junto con esto, sería interesante analizar el efecto del *radio-priming* a largo plazo. Esto, porque se ha observado que la radiación ionizante tiene algunas consecuencias en la descendencia como: la inhibición de genes asociados a enzimas antioxidantes; aumento en la capacidad para regular la expresión de genes del sistema de reparación; y el incremento en la expresión de genes asociados a la protección antioxidante (Kovalchuk et al., 2004).

VII. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES

Tal como lo dice el Ministerio del Medio Ambiente, el cambio climático es una realidad innegable. Somos la primera generación en vivir las consecuencias de la crisis climática mundial, y probablemente, también somos la última generación que pueda hacer algo para mitigarla. Es por esto que está en nuestras manos la capacidad de adaptarnos a las actuales condiciones ambientales. Las plantas son organismos sésiles capaces de adaptarse y responder a factores de estrés ambiental. No obstante, factores climáticos actuales han provocado pérdidas mundiales del orden del 50% de los cultivos del sector agrícola debido a alteraciones en los procesos fisiológicos y metabólicos en las plantas repercutiendo así tanto al sector productivo como a la seguridad alimenticia. En el presente proyecto de tesis, se propuso ampliar la mirada investigativa sobre el uso de la radiación ionizante en bajas dosis como una herramienta para mejorar la adaptabilidad de las plantas a condiciones estresantes.

Para esto, se desarrolló un diseño experimental que permitió determinar la relación de dosis-respuesta a la exposición de dosis crecientes de IR en *Arabidopsis thaliana* para diferentes tipos de irradiación

de tejido. Las técnicas de irradiación estudiadas fueron: irradiación en semilla en seco (*dried seeds*), irradiación en semilla embebida (*soaked seeds*) e irradiación en plántula (*seedlings*). Para todas las irradiaciones, se midieron distintos parámetros de desempeño vegetal como: germinación, área de roseta, largo de raíz y fluorescencia de la clorofila. Para los tres tipos de irradiación estudiados, en general, se registraron efectos negativos en el crecimiento de área de roseta y largo de raíz para dosis mayores a 40 Gy en comparación de las plantas no irradiadas. Además, no se reportaron diferencias significativas en la germinación ni en la fluorescencia de la clorofila. Gracias a esto, se pudo concluir que zona radio-hormética de *A. thaliana* se encontraba a dosis menores de 40 Gy, y que este rango de dosis era capaz de estimular positivamente el rendimiento fisiológico.

Con estos resultados, se estableció un protocolo que permitiera determinar el efecto estimulante de la zona hormética de la radiación ionizante utilizada como *radio-priming* en *A. thaliana* expuesta los ambientes sin estrés, con estrés salino y con estrés por calor. Los efectos de la respuesta del *radio-priming* se midieron sobre parámetros fisiológicos: área de roseta, largo de raíz y fluorescencia de la clorofila. En resumen, por lo general, las dosis más estimulantes en los ambientes estresantes fueron 5 y 10 Gy, tanto para el área foliar como para el largo de raíz. Los resultados sugieren que la irradiación de semillas y plántulas de *A. thaliana* a dosis inferiores a 5 Gy protege a las plantas, contribuyendo a su tolerancia a otros estreses, particularmente en semillas embebidas expuestas a estrés salino. Por otro lado, la radio-protección en las plántulas se induce solamente en la raíz y en los ambientes de estrés por calor a los 40 Gy. En relación con los ambientes sin estrés, los efectos beneficiosos de la exposición a bajas dosis de radiación ionizante son más diversos, por lo que parecieran depender del tipo de irradiación utilizado y el tejido vegetal analizado. No se reportaron diferencias significativas en la fluorescencia de la clorofila. Así, se puede concluir que la única irradiación que logró producir radio-protección, tanto para raíz como en roseta, fue “*soaked seeds*”. Es por esto por lo que se puede sugerir el uso de esta metodología de radiación ionizante a bajas dosis como un mecanismo de *priming* para inducir tolerancia al estrés salino en semillas de *A. thaliana*.

Las proyecciones para esta investigación a corto plazo son la ejecución y evaluación de los análisis bioquímicos y moleculares correspondientes a los resultados obtenidos tras la exposición del *radio-priming* a los ambientes de estudio: sin estrés, estrés por calor y estrés salino. Algunos de estos procedimientos son la extracción de pigmentos fotosintéticos y carotenoides; la detección de peróxido de hidrógeno y superóxido; la extracción de prolina; la extracción de RNA; y un análisis genómico para detectar presencia de mutaciones. A largo plazo, sería interesante estudiar un análisis transcriptómico con la finalidad de identificar la regulación de los genes asociados al *radio-priming*

en el estrés oxidativo, la traducción de señales, los factores de transcripción, la respuesta hormonal, el metabolismo, el ciclo celular y desarrollo en general. También se podría hacer un análisis en sustrato sobre rendimiento reproductivo de las semillas irradiadas con el paso de las generaciones.

Por último, otro punto importante a considerar es que se ha documentado que el estrés a altas dosis no tan solo afecta al organismo, sino también puede alterar a la red ecológica completa (Agathokleous et al., 2019). En relación con este tema, el experimento de *radio-priming* en ambientes estresantes tuvo al menos tres repeticiones y en casi todas las repeticiones, aparecía una contaminación de aspecto lechoso que colonizaba las raíces tras aproximadamente 10 días desde el trasplante. Generalmente, esta contaminación aparecía en los ambientes de estrés por calor a los 40 Gy, y con el transcurso del tiempo, su aspecto cambiaba volviéndose de color amarillo. Se supuso que se podría estar desequilibrando el microbioma o alterando la bioprotección de *A. thaliana*. Es por esto, que se mandó a secuenciar la contaminación, dando como resultado una *Enterobacteriaceae* del género *Pantoea* sin clasificar. Fan et al. (2020) reportaron, en su estudio sobre bacterias endófitas promotoras del crecimiento en *A. Thaliana*, que la cepa *Pantoea* pertenece a un género rizobacteriano que induce promoción del crecimiento. Varios estudios afirman que las *Enterobacteriaceae* son muy sensibles a la radiación, pero en particular las *Pantoea* endófitas han desarrollado tolerancia superior al estrés (Le-Tien et al., 2006). En específico, se dice que este género es hasta cinco veces más radio-tolerante (Dussault, 2008; Le-Tien et al., 2006). Lo interesante de esta bacteria es que produce un pigmento carotenoide de color amarillo para protegerse contra la producción de ROS, por lo que la hipótesis sobre el desequilibrando el microbioma es muy probable al combinar estrés por calor y radiación ionizante (Dussault, 2008).

VIII. ANEXOS

Los siguientes anexos tienen la función de dar una mirada a las posibles aplicaciones asociadas a los temas revisados en la tesis.

A1. Análisis de la industria

El suelo es un recurso vital que entrega productos y servicios fundamentales para mantener la vida y prosperidad (Alexakis et al., 2018; Baggaley et al., 2020). Considerando que la ONU proyecta una población mundial de 9700 millones de personas para el año 2050, la conservación de los suelos toma un rol de suma importancia en la seguridad alimenticia, pues se estima que la producción de alimentos deberá aumentar en un 70% (FAO, 2009). En particular, uno de los factores abióticos más estresantes para los cultivos es la salinidad de los suelos, principalmente presente en zonas secas de escasas precipitaciones, degradadas por el uso de fertilizantes o de mal drenaje (Butcher et al., 2016;

Goykovic y Saavedra, 2021; Minhas et al., 2020). En estos suelos, las sales se acumulan debido a las altas tasas de evaporación y la baja disponibilidad de agua (Talat, 2020). Es por esto, que la salinización de los suelos es la principal razón de la degradación de la tierra, la pérdida de áreas cultivables y la reducción en la calidad, el rendimiento y la productividad de los cultivos (Balkanlou et al., 2020; Bennett et al., 2019; Buthelezi-Dube et al., 2020; Singh, 2022; Tanveer et al., 2020). A nivel de crecimiento y metabolismo vegetal, la salinidad provoca alteraciones fisiológicas, morfológicas y bioquímicas como disminución en germinación de semillas, disminución de la fotosíntesis, menor peso en frutos, senescencia en hojas y problemas tanto en el desarrollo como en la absorción de agua por las raíces (Balkanlou et al., 2020; Bennett et al., 2019; Buthelezi-Dube et al., 2020; Goykovic y Saavedra, 2021). En esta tesis, se propone que se puede usar la irradiación de semillas embebidas (*soaked seeds*) a bajas dosis como mecanismo de *radio-priming* para inducir tolerancia al estrés salino en semillas de *A. thaliana*. En particular, la dosis 5 Gy generó radio-protección y promoción del crecimiento tanto en la roseta como en la raíz. En comparación con las plantas no irradiadas, la roseta creció en 18,2% y las raíces en un 29,7%. Con la finalidad de extrapolar esta información, a continuación, se presenta una posible aplicación de *radio-priming* en un cultivo de interés comercial, el tomate.

La especie modelo por excelencia en la investigación es *A. thaliana*, sin embargo, no es una especie de interés económica. El tomate (*Solanum lycopersicum*), por otro lado, es una planta modelo con gran relevancia económica, pues sus estudios son aplicables directamente sobre el cultivo (Linares, 2016; Rodríguez et al., 2013). Es una especie diploide de pequeño genoma, tiene un ciclo de vida relativamente corto, de fácil control en la polinización e hibridación, tiene alta fertilidad, puede propagarse mediante esquejes y tiene facilidad de regeneración (Rodríguez et al., 2013). El tomate es una de las hortalizas más importante a nivel mundial con una superficie total de 5 millones de hectáreas cosechadas, de acuerdo con cifras del 2019 (ODEPA, 2021). De acuerdo con estadísticas del Instituto Nacional de Estadísticas de Chile (INE), el tomate representa el 14% de la superficie hortícola nacional, lo que ubica al tomate como la hortaliza más cultivada en el país con más de 13.000 hectáreas de suelo para el año 2020. Además de esto, Chile se ubica como el segundo productor de tomates más importante del hemisferio sur, y el número 21 a nivel mundial (Muñoz, 2021). La importancia de Chile como productor de esta especie radica en la temporalidad en el que procesa sus tomates, pues es el único país que durante todo el año está produciendo esta hortaliza (Muñoz, 2021). En general, el tomate puede cultivarse a lo largo del país, pero principalmente se concentra en la región de Valparaíso (20%), la región Metropolitana (17%), la región de O'Higgins (17%) y en la Arica y Parinacota (15%) (Muñoz, 2021). El problema de esto es que, según la

Dirección General de Aguas (DGA) del Ministerio de Obras Públicas, las regiones de Atacama, Coquimbo, Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins, Maule y Los Lagos se encuentran en situación de sequía (DGA, 2021). Es decir, más de la mitad de las hectáreas destinadas a la producción de tomates está o será propensa a las consecuencias de la salinidad en los suelos. La importancia de esto radica en que el sector silvoagropecuario chileno tiene una participación en la economía que promedia el 3% del PIB, siendo la agricultura de cultivos anuales y hortalizas (22%) uno de los rubros más contribuyentes (Aguirre et al., 2019).

Algunos de los efectos más relevantes de la salinidad en el cultivo del tomate se visualizan en la germinación de las semillas, en la zona foliar y el desarrollo de raíces. Respecto a las semillas de tomates, se ha evidenciado que tanto el porcentaje como el tiempo de germinación están estrechamente relacionados con la salinidad durante la siembra (El-Habbasha et al., 1996). En concreto, a medida que aumentan las concentraciones de sales, el porcentaje de germinación es menor y el tiempo es mayor (Cuartero y Fernández, 1999). Las altas concentraciones salinas en los suelos disminuyen el potencial hídrico provocando una menor disponibilidad de agua para las semillas, lo que tiene como consecuencia incremento en el potencial hídrico para permitir la sobrevivencia de los embriones y su posterior crecimiento (Goykovic y Saavedra, 2021). A nivel de hojas, se ha reportado que la salinidad puede generar disminución en el área foliar, menor aparición de hojas, disminución en la densidad estomática, clorosis y necrosis (Romero-Aranda, Soria y Cuartero, 2001). En relación con las raíces, las altas concentraciones salinas afectan la absorción de agua, principalmente debido a cambios en los potenciales hídricos en la zona radicular (Shannon y Grieve, 1999). Yokoi et al. (2002) también reporta desequilibrios iónicos que generan toxicidad y desbalances nutricionales esenciales para el crecimiento y desarrollo. Por lo general, la salinidad provoca disminuciones en el largo de raíz y, por consecuencia, también hay una reducción del volumen de suelo que puede explorar para absorber agua y nutrientes (Goykovic y Saavedra, 2021).

Servicio/Tecnología propuesta

Considerando que la aplicación de las bajas dosis de IR puede generar efectos estimulantes en las plantas irradiadas como el aumento de la germinación y la inducción del sistema radicular (Agathokleous et al., 2019); y en base a lo reportado en esta tesis, se propone implementar un protocolo de *radio-priming* en semillas embebidas de tomate para aumentar la tolerancia a estrés salino. Lo anterior con el objetivo a largo plazo de la utilización de esta tecnología nuclear a bajas dosis para mejorar los procesos de tolerancia de los cultivos nacionales a las consecuencias del cambio climático. Para esto se proponen los siguientes hitos en sus respectivos tiempos estimados:

1. Obtención de la curva dosis-respuesta del tomate a dosis crecientes de radiación ionizante (6 meses).
2. Identificación de la zona hormética en tomates (6 meses).
3. Desarrollo de un protocolo de *radio*-priming en tomates expuestos a estrés salino (6-8 meses).
4. Evaluación germinativa, bioquímica, fisiológica, morfológica, metabólica y molecular de los efectos estimulantes del radio-priming sobre el tomate (6-8 meses).
5. Análisis del radio-priming en suelo (6-8 meses)
6. Nivel operacional (1 año)
7. Patentamiento (4 años)
8. Difusión y transferencia de protocolos de tratamiento radio-hormético (1 año).

La principal ventaja competitiva de la solución propuesta es la innovación de mercado, pues como se explicó al inicio de esta investigación, no existe competencia actual en Chile. Si bien se encontró información sobre el uso de radio-hormesis en el sector agrícola, es escasa y, por consiguiente, aún hay pocas patentes. Los beneficios y costos asociados a esta propuesta se explican a continuación:

Beneficios:

- **Germinación:** El protocolo de irradiación de semillas embebidas (*soaked seeds*) sugirió que las semillas no tuvieron diferencias germinativas al incremento de las dosis (hasta 200 Gy).
- **Aspectos productivos y ambientales:** La factibilidad de la irradiación de semillas embebidas obtuvo mejoramientos en la roseta de un 18,2% y las raíces de un 29,7%, respecto a las plantas no irradiadas expuestas al estrés salino más severo estudiado.
- **Adaptabilidad al cambio climático:** Se ha demostrado el beneficio del uso de la radio-hormesis para inducir la aparición de respuestas adaptativas que protegen a los organismos contra los efectos dañinos de las latentes amenazas ambientales.

Costos:

- **Investigación:** Todo lo que conlleve investigación tanto *in vitro* como *in vivo* amerita costos en materiales, personal y tiempo.
- **Irradiación:** El proceso de irradiación de semillas a nivel industrial tendrá asociado un costo. No obstante, hay que tomar en cuenta que dado la capacidad volumétrica del irradiador y el reducido tamaño de las semillas de tomate, el proceso de irradiación no implicaría un costo relevante.
- **Transporte:** Considerando que el tomate se produce a lo largo de todo Chile, y que solo existen dos sucursales de la Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN), habrá que

considerar los costos incurridos en el despacho del material hasta el centro de irradiación y su posterior retorno. Las semillas de tomate no necesitan mayor manipulación que un lugar oscuro y fresco.

Otros resultados vinculados a esta solución son:

- **Propiedad Intelectual:** Con esto se refiere a patentar la metodología de investigación. En este caso, al protocolo de *radio-priming* en semillas embebidas de tomate para aumentar la tolerancia a estrés salino. Esto necesita un estudio de factibilidad y de pertinencia de solicitar patentamiento o protección.
- **Transferencia y Negocio:** Por una parte, está la transferencia de la técnica para su uso en otras especies de cultivos. Por la otra, está dar servicio de radio-hormesis.
- **Producción Científica:** Este punto está dedicado a la divulgación científica de la investigación.

De haber logrado finalizar exitosamente la parte experimental, y de haber podido desarrollar un protocolo funcional de *radio-priming* se esperaría que la CCHEN, en caso de que no hubiera otra empresa interesada, fuera la entidad encargada de definir los términos y condiciones en el que prestara el servicio de irradiación a semillas de tomate, o en su defecto, a la administración del licenciamiento del protocolo, es decir, el derecho a uso, copia, distribución, estudio y modificación de la metodología.

A grandes rasgos, se esperaría que el modelo de negocio consistiera en que la Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN) estuviera a cargo de dirigir la investigación y desarrollo del protocolo propuesto, pues consta del equipamiento, las capacidades humanas y el conocimiento tanto del sector agrícola/investigativo como nuclear. La transferencia tecnológica de consiste en dos alternativas: (1) el desarrollo de un servicio dedicado a la radio-hormesis llevada a cabo por la CCHEN y (2) el licenciamiento por propiedad intelectual de la técnica por alguna empresa. Los principales proveedores serán los dueños del material vegetal que será irradiado (semillas de tomate), que pueden ser las mismas empresas productoras de tomates. Si bien, los usuarios finales serán las empresas productoras de tomates, el mercado potencial puede abarcar productores más pequeños. La Figura 23 hace referencia al diagrama del Modelo de Negocios de la solución propuesta.

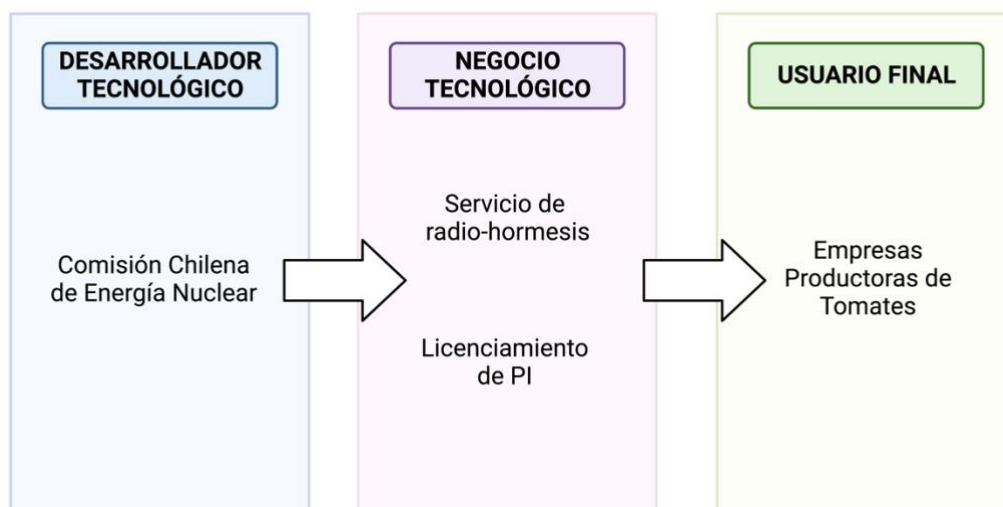


Figura 23. Diagrama del Modelo de Negocios de la solución propuesta. Elaboración propia, creada con BioRender.com

Cabe mencionar que la CCHEN no tiene derecho exclusivo sobre el uso de irradiadores en Chile, pero sí cuenta con todas las autorizaciones y los recursos necesarios para prestar servicios con volúmenes industriales. La CCHEN, al ser una entidad pública, tiene como misión fomentar y desarrollar la investigación, el conocimiento y la provisión de productos y servicios, en el ámbito de la energía, las radiaciones ionizantes, tecnologías nucleares y afines, además de normar y fiscalizar su uso pacífico y seguro para la sociedad y el medio ambiente. En otras palabras, no tiene como propósito generar ganancias y, de tenerlas, son marginales. Esto quiere decir que una empresa puede adquirir un irradiador en sus instalaciones, considerando claramente el licenciamiento de la metodología, los costos asociados a la obtención y mantenimiento del equipo, capacitación de personal y contar con las precauciones y cuidados ambientales necesarios.

Este ejercicio de análisis de la industria se realizó basándose en lo que se encontró en la literatura, por lo que se hicieron suposiciones respecto a la metodología y la formulación necesaria del proyecto. La solución propuesta es hipotética, por lo que carece de datos finos y necesita de una investigación exhaustiva. Es necesario considerar la robustez de los resultados experimentales en tomate, el verdadero interés de la industria agrícola por esta solución y una cuantificación concreta sobre el beneficio de esta tecnología nuclear para mejorar la tolerancia de cultivos nacionales.

A2. Material Complementario

A2.1 Tasas de crecimiento para los tipos de irradiación expuestas a dosis crecientes

I. Irradiación *dried seeds*

Tabla 1. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	1,2%	1,1%	0,8%	1,0%	0,8%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	6,6%	3,8%	3,3%	5,1%	3,5%
<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	4,9%	3,0%	2,6%	3,9%	2,7%

Tabla 2. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	62,2%	56,2%	49,1%	54,6%	46,0%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	87,0%	79,2%	78,4%	85,1%	76,6%
<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	79,5%	71,8%	69,7%	74,8%	67,0%

II. Irradiación *soaked seeds*

Tabla 3. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	1,1%	1,1%	1,0%	1,4%	0,6%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	4,6%	5,9%	5,4%	5,9%	2,2%
<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	3,5%	4,4%	4,1%	4,5%	1,7%

Tabla 4. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	54,7%	57,8%	44,4%	48,2%	11,3%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	76,0%	82,7%	83,3%	76,7%	59,6%
<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	69,3%	75,1%	71,6%	67,0%	44,8%

III. Irradiación *seelings*

Tabla 5. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	0,9%	0,8%	0,7%	0,7%	0,7%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	4,2%	4,5%	3,5%	2,1%	2,0%

<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	3,2%	3,4%	2,6%	1,7%	1,6%
---------------------------------	------	------	------	------	------

Tabla 6. Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	10	40	80	200
<i>Day 4 to 7 after sowing</i>	53,0%	52,5%	55,1%	45,4%	47,1%
<i>Day 7 to 14 after sowing</i>	51,4%	68,9%	51,6%	22,7%	5,5%
<i>Day 4 to 14 after sowing</i>	48,9%	63,5%	53,0%	28,7%	14,5%

A2.2 Tasas de crecimiento para los tipos de irradiación expuestas a los ambientes de estudio

I. Irradiación *dried seeds* expuesta a los ambientes: sin estrés, estrés salino y estrés por calor

Tabla 7.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	5,40%	5,21%	5,87%	6,35%
<i>Mild-heat stress</i>	7,00%	5,65%	7,14%	6,64%
<i>High-heat stress</i>	7,89%	7,54%	7,11%	6,64%
<i>Mild-salt stress</i>	2,54%	2,57%	2,41%	3,40%
<i>High-salt stress</i>	2,12%	1,67%	0,97%	1,07%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

Tabla 8.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	58,20%	57,34%	62,63%	55,53%
<i>Mild-heat stress</i>	57,91%	62,13%	58,65%	56,27%
<i>High-heat stress</i>	55,30%	59,57%	60,11%	53,36%
<i>Mild-salt stress</i>	39,19%	42,70%	30,16%	38,81%
<i>High-salt stress</i>	28,89%	25,78%	22,26%	21,28%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

II. Irradiación *soaked seeds* expuesta a los ambientes: sin estrés, estrés salino y estrés por calor

Tabla 9.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	4,79%	5,91%	6,08%	6,03%
<i>Mild-heat stress</i>	5,29%	4,74%	7,16%	5,44%
<i>High-heat stress</i>	5,66%	5,57%	5,30%	4,67%
<i>Mild-salt stress</i>	3,82%	4,49%	4,93%	3,47%
<i>High-salt stress</i>	2,58%	3,05%	2,55%	2,32%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

Tabla 10.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	55,80%	62,21%	61,58%	54,00%
<i>Mild-heat stress</i>	55,04%	52,58%	56,08%	58,45%
<i>High-heat stress</i>	54,15%	58,45%	54,06%	55,40%
<i>Mild-salt stress</i>	49,72%	50,54%	56,55%	47,08%
<i>High-salt stress</i>	39,10%	50,69%	36,87%	36,15%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

III. Irradiación *seedlings* expuesta a los ambientes: sin estrés, estrés salino y estrés por calor

Tabla 11.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del área de roseta

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	6,35%	8,04%	7,40%	6,86%
<i>Mild-heat stress</i>	7,69%	8,81%	4,69%	7,73%
<i>High-heat stress</i>	6,55%	7,87%	3,95%	6,63%
<i>Mild-salt stress</i>	2,75%	3,26%	2,20%	2,15%
<i>High-salt stress</i>	1,19%	1,82%	1,93%	1,52%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

Tabla 12.

Tasa de crecimiento relativo obtenidos del largo de raíz

Doses (Gy)	0	5	10	40
<i>Without stress</i>	25,81%	24,95%	27,00%	37,67%
<i>Mild-heat stress</i>	22,97%	28,41%	16,22%	38,44%
<i>High-heat stress</i>	15,36%	23,40%	10,68%	27,64%
<i>Mild-salt stress</i>	24,03%	24,27%	23,63%	21,03%
<i>High-salt stress</i>	20,64%	14,17%	21,26%	13,31%

Nota. La medición se tomó desde el día 0 del traspaso hasta el día 14.

IX. BIBLIOGRAFÍA

AGATHOKLEOUS, Evgenios. Environmental hormesis, a fundamental non-monotonic biological phenomenon with implications in ecotoxicology and environmental safety. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2018, vol. 148, p. 1042-1053.

AGATHOKLEOUS, Evgenios; KITAO, Mitsutoshi; CALABRESE, Edward J. Hormesis: a compelling platform for sophisticated plant science. *Trends in plant science*, 2019, vol. 24, no 4, p. 318-327.

AGATHOKLEOUS, Evgenios; CALABRESE, Edward J. Hormesis can enhance agricultural sustainability in a changing world. *Global food security*, 2019, vol. 20, p. 150-155.

AGATHOKLEOUS, Evgenios; CALABRESE, Edward J. Hormesis: the dose response for the 21st century: the future has arrived. *Toxicology*, 2019, vol. 425, p. 152249.

AGUIRRE, Romina, et al. Panorama de la Agricultura Chilena. *Biblioteca Digital del Instituto Forestal*, 2019.

AINSWORTH, Elizabeth A. Understanding and improving global crop response to ozone pollution. *The Plant Journal*, 2017, vol. 90, no 5, p. 886-897.

ALIKAMANOGLU, Sema; YAYCILI, Orkun; SEN, Ayse. Effect of gamma radiation on growth factors, biochemical parameters, and accumulation of trace elements in soybean plants (*Glycine max* L. Merrill). *Biological Trace Element Research*, 2011, vol. 141, no 1, p. 283-293.

ANDERSON, Robyn; BAYER, Philipp E.; EDWARDS, David. Climate change and the need for agricultural adaptation. *Current opinion in plant biology*, 2020.

ANDERSON, Jill T.; SONG, Bao-Hua. Plant adaptation to climate change—Where are we?. *Journal of Systematics and Evolution*, 2020, vol. 58, no 5, p. 533-545.

ANTONIOU, Chrystalla, et al. Unravelling chemical priming machinery in plants: the role of reactive oxygen–nitrogen–sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement. *Current opinion in plant biology*, 2016, vol. 33, p. 101-107.

ÁLVAREZ ARAGÓN, Rocío. Análisis funcional y genético de la entrada de Na⁺ en la raíz y de la tolerancia a la salinidad en *Arabidopsis thaliana*. 2018. *Tesis Doctoral*. Agronomica.

ALEXAKIS, D. D., et al. Assessing soil salinity using WorldView-2 multispectral images in Timpaki, Crete, Greece. *Geocarto International*, 2018, vol. 33, no 4, p. 321-338.

AZCÓN-BIETO, Joaquín, et al. Fundamentos de fisiología vegetal. ES: *McGraw-Hill Interamericana*, 2000.

BABINA, Darya, et al. Seed Gamma Irradiation of *Arabidopsis thaliana* ABA-Mutant Lines Alters Germination and Does Not Inhibit the Photosynthetic Efficiency of Juvenile Plants. *Dose-Response*, 2020, vol. 18, no 4, p. 1559325820979249.

BAGGALEY, Nikki, et al. Soil risk maps—Interpreting soils data for policy makers, agencies and industry. *Soil Use and Management*, 2020, vol. 36, no 1, p. 19-26.

BALKANLOU, Khadijeh Rahimi, et al. Spatiotemporal dynamics of ecosystem services provision in a degraded ecosystem: A systematic assessment in the Lake Urmia basin, Iran. *Science of the Total Environment*, 2020, vol. 716, p. 137100.

BANCO CENTRAL DE CHILE. Declaración conjunta sobre el Cambio Climático, 2019.

BARESCUT, J., et al. Effect of low-dose chronic gamma exposure on growth and oxidative stress related responses in *Arabidopsis thaliana*. *Radioprotection*, 2009, vol. 44, no 5, p. 487-491.

BAUD, Sébastien, et al. An integrated overview of seed development in *Arabidopsis thaliana* ecotype WS. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, vol. 40, no 2, p. 151-160.

BELLAGIO, Tatiana. Estrés térmico e hídrico sobre la regulación del proceso autofágico en *Arabidopsis thaliana*. *Tesis de Licenciatura*. 2019.

BENNETT, J. McL, et al. Towards predicting the soil-specific threshold electrolyte concentration of soil as a reduction in saturated hydraulic conductivity: The role of clay net negative charge. *Geoderma*, 2019, vol. 337, p. 122-131.

BHATTACHARYA, Sumangala; RATTAN, Suresh IS. Primary Stress Response Pathways for Preconditioning and Physiological Hormesis. *The Science of Hormesis in Health and Longevity. Academic Press*, 2019. p. 35-51.

BITARISHVILI, S. V.; VOLKOVA, P. Yu; GERAS'KIN, S. A. γ -Irradiation of barley seeds and its effect on the phytohormonal status of seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2018, vol. 65, no 3, p. 446-454.

BJÖRKMAN, Olle; DEMMIG, Barbara. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 1987, vol. 170, no 4, p. 489-504.

BLAGOJEVIC, Dajana. Effects of gamma radiation on growth and development in *Arabidopsis thaliana*. 2015. *Tesis de Maestría*. Norwegian University of Life Sciences, Ås.

BRITO, Ivana PFS, et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. *Pest management science*, 2018, vol. 74, no 5, p. 1064-1070.

BOYES, Douglas C., et al. Growth stage–based phenotypic analysis of Arabidopsis: a model for high throughput functional genomics in plants. *The Plant Cell*, 2001, vol. 13, no 7, p. 1499-1510.

BORZOU EI, A., et al. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Pak. J. Bot*, 2010, vol. 42, no 4, p. 2281-2290.

BUTCHER, Kirsten, et al. Soil salinity: A threat to global food security. *Agronomy Journal*, 2016, vol. 108, no 6, p. 2189-2200.

BUTHELEZI-DUBE, Nkosinomusa Nomfundo, et al. Soil fertility assessment and management from the perspective of farmers in four villages of eastern South Africa. *Soil Use and Management*, 2020, vol. 36, no 2, p. 250-260.

BUTLER, Warren L. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 1978, vol. 29, no 1, p. 345-378.

CALABRESE, Edward J.; BALDWIN, Linda A. A general classification of U-shaped dose-response relationships in toxicology and their mechanistic foundations. *Human & experimental toxicology*, 1998, vol. 17, no 7, p. 353-364.

CALABRESE, Edward J. Preconditioning is hormesis part I: Documentation, dose-response features and mechanistic foundations. *Pharmacological Research*, 2016, vol. 110, p. 242-264.

CALABRESE, Edward J.; MATTSON, Mark P. How does hormesis impact biology, toxicology, and medicine?. *NPJ aging and mechanisms of disease*, 2017, vol. 3, no 1, p. 1-8.

CALABRESE, Edward J.; AGATHOKLEOUS, Evgenios. Accumulator plants and hormesis. *Environmental Pollution*, 2021, p. 116526.

CALABRESE, Edward J. The dose–response revolution: how hormesis became significant: an historical and personal reflection. *The Science of Hormesis in Health and Longevity. Academic Press*, 2019. p. 3-24.

CALINI, V.; URANI, C.; CAMATINI, M. Overexpression of HSP70 is induced by ionizing radiation in C3H 10T1/2 cells and protects from DNA damage. *Toxicology in vitro*, 2003, vol. 17, no 5-6, p. 561-566.

CAPLIN, Nicol; WILLEY, Neil. Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: from acute high doses to chronic low doses. *Frontiers in plant science*, 2018, vol. 9, p. 847.

CHAKI, Mounira, et al. High temperature triggers the metabolism of S-nitrosothiols in sunflower mediating a process of nitrosative stress which provokes the inhibition of ferredoxin–NADP reductase by tyrosine nitration. *Plant, cell & environment*, 2011, vol. 34, no 11, p. 1803-1818.

CHRISTMAS, Matthew J.; BREED, Martin F.; LOWE, Andrew J. Constraints to and conservation implications for climate change adaptation in plants. *Conservation Genetics*, 2016, vol. 17, no 2, p. 305-320.

CERRILLO, Rafael M. Navarro; RODRÍGUEZ, R. Maldonado; MATEOS, David Ariza. Fluorescencia de la clorofila en cinco procedencias de "Pinus halepensis" Mill y su respuesta a estrés hídrico. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 2004, no 17, p. 69-74.

CIAIS, Philippe, et al. Carbon and other biogeochemical cycles. En *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press*, 2014. p. 465-570.

CHOUDHURY, Feroza K., et al. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, 2017, vol. 90, no 5, p. 856-867.

CORPAS, Francisco J.; GUPTA, Dharmendra K.; PALMA, José M. Production sites of reactive oxygen species (ROS) in organelles from plant cells. Reactive oxygen species and oxidative damage in plants under stress. *Springer*, Cham, 2015. p. 1-22.

CUARTERO, Jesús; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, Rafael. Tomato and salinity. *Scientia horticulturae*, 1998, vol. 78, no 1-4, p. 83-125.

DE LOS SANTOS VILLALOBOS, Sergio. Inducción de mutaciones: estado del conocimiento en el mejoramiento de plantas en América Latina y el Caribe. *Editorial Fontamara*, 2021.

DE MICCO, Veronica, et al. Effects of sparsely and densely ionizing radiation on plants. *Radiation and Environmental Biophysics*, 2011, vol. 50, no 1, p. 1-19.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS III, W. W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual review of plant biology*, 1992, vol. 43, no 1, p. 599-626.

DEVIREDDY, Amith R., et al. Integration of reactive oxygen species and hormone signaling during abiotic stress. *The Plant Journal*, 2021, vol. 105, no 2, p. 459-476.

DIRECCIÓN GENERAL DE AGUAS. 2021: ¿Será el año con más decretos de escasez hídrica? *Ministerio de Obras Públicas*, 2021.

DONALDSON, E.; NILAN, R. A.; KONZAK, C. F. The interaction of oxygen, radiation exposure and seed water content on γ -irradiated barley seeds. *Environmental and Experimental Botany*, 1979, vol. 19, no 3, p. 153-164.

DOWLATH, Mohammed Junaid Hussain, et al. Effects of radiation and role of plants in radioprotection: A critical review. *Science of the Total Environment*, 2021, vol. 779, p. 146431.

DRZEŹDŹON, Joanna; JACEWICZ, Dagmara; CHMURZYŃSKI, Lech. The impact of environmental contamination on the generation of reactive oxygen and nitrogen species—Consequences for plants and humans. *Environment international*, 2018, vol. 119, p. 133-151.

DUSENGE, Mirindi Eric; DUARTE, André Galvao; WAY, Danielle A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, 2019, vol. 221, no 1, p. 32-49.

DUSSAULT, D., et al. Carotenoids' influence on radiotolerance of *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen. *Letters in applied microbiology*, 2008, vol. 47, no 3, p. 208-213.

EL-HABBASHA, K. M.; SHAHEEN, A. M.; RIZK, F. A. Germination of some tomato cultivars as affected by salinity stress condition. *Egyptian Journal of Horticulture (Egypt)*, 1996.

ESNAULT, Marie-Andrée; LEGUE, Florence; CHENAL, Christian. *Ionizing radiation: advances in plant response. Environmental and Experimental Botany*, 2010, vol. 68, no 3, p. 231-237.

ETEHADNIA, Masoomah, et al. El efecto de la aclimatación de la sal de CaCl_2 y NaCl en la tolerancia al estrés y su papel potencial en las respuestas al estrés salino mediadas por ABA y vástagos/portainjertos. *Estrés vegetal*, 2010, vol. 4, pág. 72-81.

FAN, Jing, et al. Regulation of photosynthetic performance and antioxidant capacity by ^{60}Co -irradiation in *Zizania latifolia* plants. 2015.

FAN, Di; SUBRAMANIAN, Sowmyalakshmi; SMITH, Donald L. Plant endophytes promote growth and alleviate salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Scientific reports*, 2020, vol. 10, no 1, p. 1-18.

FERNÁNDEZ, Consuelo. Transición hídrica. El futuro del agua en Chile. 2019.

FERNÁNDEZ, Guillermo. Estudio de germinación de semillas de *A. thaliana* mutantes de genes PEPC y PEPC-quinasa. 2016.

GENEST, Olivier; WICKNER, Sue; DOYLE, Shannon M. Hsp90 and Hsp70 chaperones: Collaborators in protein remodeling. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, vol. 294, no 6, p. 2109-2120.

GERAS'KIN, Stanislav, et al. Influence of long-term chronic exposure and weather conditions on Scots pine populations. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, vol. 24, no 12, p. 11240-11253.

GERAS' KIN, Stanislav; CHURYUKIN, Roman; VOLKOVA, Polina. Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants' development. *Journal of environmental radioactivity*, 2017, vol. 177, p. 71-83.

GILL, Sarvajeet S., et al. DNA damage and repair in plants under ultraviolet and ionizing radiations. *The Scientific World Journal*, 2015, vol. 2015.

GOYKOVIC CORTÉS, Vitelio; SAAVEDRA DEL REAL, Gabriel. Some effects of salinity on the tomato cultivars and agronomic practices in its managing. *Idesia* (Arica), 2007, vol. 25, no 3, p. 47-58.

GROSSMANN, Klaus. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 2010, vol. 66, no 2, p. 113-120.

GUDKOV, Sergey V., et al. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants. *Journal of environmental radioactivity*, 2019, vol. 202, p. 8-24.

GUTIÉRREZ CARO, Braulio, et al. Análisis de germinación de semillas de Eucalyptus nitens tratadas con radiación gamma: indicios de efecto hormético. 2021.

HAJIBOLAND, Roghieh. Reactive oxygen species and photosynthesis. En *Oxidative damage to plants*. Academic Press, 2014. p. 1-63.

HALEEM, Mohammed Abdel, et al. Pre-exposure to gamma rays alleviates the harmful effect of salinity on cowpea plants. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 2012, vol. 8, no 4, p. 199-217.

HEATH, J. D., et al. Analysis of storage proteins in normal and aborted seeds from embryo-lethal mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 1986, vol. 169, no 3, p. 304-312.

HITCHLER, Michael J.; DOMANN, Frederick E. The epigenetic and morphogenetic effects of molecular oxygen and its derived reactive species in development. *Free Radical Biology and Medicine*, 2021.

HOSAMANI, Ravikumar; MURALIDHARA. Acute exposure of *Drosophila melanogaster* to paraquat causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 2013, vol. 83, no 1, p. 25-40.

INCE SALAZAR, Luz Adriana; RODRÍGUEZ VALENCIA, Nelson; SADEGHIAN KHALAJABADI, Siavosh. Disponibilidad de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^{+} en función de las propiedades del suelo, zona cafetera central de Colombia. 2016.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Developing New Plant Varieties for Food Security, Biodiversity and Sustainable Ecosystems. *IAEA Office of Public Information and Communication*, 2022.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Using Nuclear Science to Boost Plant Biodiversity. *IAEA Office of Public Information and Communication*, 2016.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). What is Radiation?. *IAEA Office of Public Information and Communication*, 2022.

ISAYENKOV, Stanislav V.; MAATHUIS, Frans JM. Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, p. 80

ISSA, Piri, et al. The use of gamma irradiation in agriculture. *African Journal of Microbiology Research*, 2011, vol. 5, no 32, p. 5806-5811.

ISLAM, Faisal, et al. 2, 4-D attenuates salinity-induced toxicity by mediating anatomical changes, antioxidant capacity and cation transporters in the roots of rice cultivars. *Scientific reports*, 2017, vol. 7, no 1, p. 1-23.

JALAL, Arshad, et al. Hormesis in plants: Physiological and biochemical responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, vol. 207, p. 111225.

JIMÉNEZ, Josefina. La tecnología nuclear en el mejoramiento de las plantas. *Ciencia*, 2004.

JIN, Shunzi; JIANG, Hongyu; CAI, Lu. New understanding of the low-dose radiation-induced hormesis. *Radiation Medicine and Protection*, 2020, vol. 1, no 1, p. 2-6.

JOHNSON, Riya; PUTHUR, Jos T. Seed priming as a cost-effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, vol. 162, p. 247-257.

KABILAN, Usha, et al. Ionizing Radiation and Translation Control: A Link to Radiation Hormesis?. *International journal of molecular sciences*, 2020, vol. 21, no 18, p. 6650.

KIM, Jin-Hong, et al. Effects of gamma-irradiation on growth, photosynthesis, and antioxidative capacity of red pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Journal of Plant Biology*, 2005, vol. 48, no 1, p. 47-56.

KOHLI, Ajay, et al. The phytohormone crosstalk paradigm takes center stage in understanding how plants respond to abiotic stresses. *Plant Cell Reports*, 2013, vol. 32, no 7, p. 945-957.

KOZEKO, Liudmyla, et al. A protective role of HSP90 chaperone in gamma-irradiated *Arabidopsis thaliana* seeds. *Life sciences in space research*, 2015, vol. 6, p. 51-58.

KOZUMBO, Walter J.; CALABRESE, Edward J. Two decades (1998–2018) of research Progress on Hormesis: advancing biological understanding and enabling novel applications. *Journal of cell communication and signaling*, 2019, vol. 13, no 3, p. 273-275.

KOVALCHUK, Igor, et al. Molecular aspects of plant adaptation to life in the Chernobyl zone. *Plant Physiology*, 2004, vol. 135, no 1, p. 357-363.

KOVALCHUK, Igor, et al. Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2007, vol. 624, no 1-2, p. 101-113.

LAANEN, Pol JPM, et al. Changes in DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* plants exposed over multiple generations to gamma radiation. *Frontiers in Plant Science*, 2021, vol. 12, p. 532.

LACHUMY, Subramanion Jothy, et al. Herbal remedies for combating irradiation: a green anti-irradiation approach. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013, vol. 14, no 10, p. 5553-5

LE-TIEN, Canh, et al. DNA analysis of a radiotolerant bacterium *Pantoea agglomerans* by FT-IR spectroscopy. *Talanta*, 2007, vol. 71, no 5, p. 1969-1975.

LINARES GONZÁLES, José Ricardo. Análisis de la expresión del gen SlMYB durante el desarrollo reproductivo de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Universidad Politécnica de Valencia*, 2016.

LÓPEZ-DIAZGUERRERO, Norma Edith, et al. Hormesis: lo que no mata, fortalece. *Gaceta médica de México*, 2013, vol. 149, no 4, p. 438-447.

LUCERO, Claudia Cecilia, et al. Comparación de las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid 1103P y 101-14Mgt, injertados con Cabernet Sauvignon. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 2017, vol. 49, no 1, p. 33-43.

LUCKEY, Thomas D. Hormesis with Ionizing Radiation. 1980.

LUCKEY, Thomas D. Radiation hormesis: the good, the bad, and the ugly. *Dose-response*, 2006, vol. 4, no 3, p. dose-response. 06-102.

LUCKEY, Thomas D. Hormesis with ionizing radiation. *CRC press*, 2019.

LUCKEY, Thomas D. Radiation hormesis. *CRC press*, 2020.

MALUSZYNSKI, Miroslaw, et al. Methodologies for generating variability. Part 4: Mutation techniques. *Plant breeding and farmer participation*, 2009, p. 159-194.

MAXWELL, Kate; JOHNSON, Giles N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany*, 2000, vol. 51, no 345, p. 659-668

MERA, Eduardo. Tecnología Nuclear en agricultura e industria alimentaria. *Aplicaciones de la Tecnología Nuclear*, 2015.

MÉNDEZ-ESPINOZA, Claudia; VALLEJO REYNA, Miguel Ángel. Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 2019, vol. 10, no 56, p. 33-64.

MINHAS, P. S., et al. Coping with salinity in irrigated agriculture: Crop evapotranspiration and water management issues. *Agricultural Water Management*, 2020, vol. 227, p. 105832.

MINISTRO DEL MEDIOAMBIENTE. Reporte del Estado del Medio Ambiente 2021. *SINIA*, 2021.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. Plan de Acción Nacional de Cambio Climático 2017-2022. *ODEPA*, 2017.

MITTLER, Ron. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 2006, vol. 11, no 1, p. 15-19.

MITTLER, Ron. ROS are good. *Trends in plant science*, 2017, vol. 22, no 1, p. 11-19.

MIROUZE, Marie; PASZKOWSKI, Jerzy. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current opinion in plant biology*, 2011, vol. 14, no 3, p. 267-274.

MONTERO LÓPEZ, Victoria Valentina, et al. Efectos atérmicos de la radiación wifi (RF-MI) sobre la germinación, desarrollo vegetativo y patrones de metilación de *Arabidopsis thaliana* en cultivo hidropónico. *Tesis de Maestría*, 2016.

MOUSTAKAS, Michael, et al. Spatiotemporal heterogeneity of photosystem II function during acclimation to zinc exposure and mineral nutrition changes in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, vol. 26, no 7, p. 6613-6624.

MUGNAI, Sergio, et al. Oxidative stress and NO signalling in the root apex as an early response to changes in gravity conditions. *BioMed research international*, 2014, vol. 2014.

MUÑOZ, Paula; MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Photo-oxidative stress during leaf, flower and fruit development. *Plant Physiology*, 2018, vol. 176, no 2, p. 1004-1014.

MUÑOZ, M. Tomate: una especie de exportación. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. *Ministerio de Agricultura*, 2021.

NAIDOO, Robin; FISHER, Brendan. Reset sustainable development goals for a pandemic world. 2020.

NGUYEN, Tran-Nguyen, et al. Lignin biosynthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.): its response to waterlogging and association with hormonal levels. *BMC plant biology*, 2016, vol. 16, no 1, p. 1-16.

NARIO, Adriana. Tecnologías Nucleares y de Radiaciones Ionizantes al Servicio de la Inocuidad Alimentaria. *Departamento Tecnologías Nucleares*, Comisión Chilena de Energía Nuclear, 2017.

NIYOGI, Krishna K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual review of plant biology*, 1999, vol. 50, no 1, p. 333-359.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Agricultura chilena: Reflexiones y Desafíos al 2030. *Centro de Información Silvoagropecuaria (CIS)*, 2017.

OHBA, KIHACHIRO. Radiation sensitivity of pine seeds of different water content. *Hereditas*, 1961, vol. 47, no 2.

OLIVEIRA, Nielsen Moreira, et al. Hormetic effects of low-dose gamma rays in soybean seeds and seedlings: a detection technique using optical sensors. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2021, vol. 187, p. 106251.

ORGANIZACIÓN PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Cómo alimentar al mundo en 2050. *Naciones Unidas*, 2009.

OWEN, Gigi. What makes climate change adaptation effective? A systematic review of the literature. *Global Environmental Change*, 2020, vol. 62, p. 102071.

QI, Wencai, et al. Pretreatment with low-dose gamma irradiation enhances tolerance to the stress of cadmium and lead in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2015, vol. 115, p. 243-249.

QI, Wencai, et al. ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in *Arabidopsis* seedling. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2015, vol. 175, no 3, p. 1490-1506.

QIN, H. L., et al. Biological effects of protons targeted to different ranges in Arabidopsis seeds. *International journal of radiation biology*, 2007, vol. 83, no 5, p. 301-308.

QI, Wencai, et al. ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in Arabidopsis seedling. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2015, vol. 175, no 3, p. 1490-1506.

PACHECO, Jorge H. Limón; CARBALLO, Marta A.; GONSEBATT, María E. Antioxidants against environmental factor-induced oxidative stress. *Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives*. Springer, Cham, 2017. p. 189-215.

PARK, Sang-Hee, et al. Inducible heat-shock protein 70 is involved in the radioadaptive response. *Radiation Research*, 2000, vol. 153, no 3, p. 318-326.

PARTNERS FOR WATER. Escaneo rápido de salinidad en las regiones Metropolitana y de Valparaíso de Chile; desafíos y oportunidades. *Programa Fruticultura Sustentable de Valparaíso y la Embajada del Reino de los Países Bajos*, 2022.

PINEDO, Ignacio, et al. Burkholderia phytofirmans PsJN induces long-term metabolic and transcriptional changes involved in Arabidopsis thaliana salt tolerance. *Frontiers in plant science*, 2015, vol. 6, p. 466.

PINTO, Francisco. Cambio climático en Chile: del desafío global a la oportunidad local. *Friedrich Ebert Stiftung*, 2019.

POUPIN, María Josefina, et al. Effects of the plant growth-promoting bacterium Burkholderia phytofirmans PsJN throughout the life cycle of Arabidopsis thaliana. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no 7, p. e69435.

PUERTA-ORTIZ, J. Anselmo; MORALES-ARAMBURO, Javier. Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes. *Revista Colombiana de Cardiología*, 2020, vol. 27, p. 61-71.

RAMOS, Oswaldo; VILLARREAL, Manuel. Fundamentos de Protección Radiológica. *Radiobiología*, 2007, vol. 7, p. 174-177.

REAL, A. Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes. *Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas*, Ministerio de Ciencia e Innovación, España, 2013.

RE SWISS. The economics of climate change: no action not an option. *Swiss Re Management Institute*, 2021, vol. 30, p. 50.

RIZHSKY, Ludmila; LIANG, Hongjian; MITTLER, Ron. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant physiology*, 2002, vol. 130, no 3, p. 1143-1151.

RODRÍGUEZ ÁLVAREZ, Clara Isabel, et al. Resistencia en tomate mediada por el gen Mi-1 frente a la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889). 2013.

ROJAS, Gustavo. Cambio Climático Impacto en la Agricultura Heladas y Sequía. *ODEPA*, 2013.

ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant science*, 2001, vol. 160, no 2, p. 265-272.

SAGE, Evelyne; SHIKAZONO, Naoya. Radiation-induced clustered DNA lesions: Repair and mutagenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, vol. 107, p. 125-135.

SANCHEZ, LINDA. Cambio climático global y sus efectos en la agricultura. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*. no. 184, 2022.

SANDERS, Dale. Plant biology: the salty tale of Arabidopsis. *Current Biology*, 2000, vol. 10, no 13, p. R486-R488.

SAVVIDES, Andreas, et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible?. *Trends in plant science*, 2016, vol. 21, no 4, p. 329-340.

SCHIRRMACHER, Volker. Less Can Be More: The Hormesis Theory of Stress Adaptation in the Global Biosphere and Its Implications. *Biomedicines*, 2021, vol. 9, no 3, p. 293.

SEVRIUKOVA, Olga, et al. Charophyte electrogenesis as a biomarker for assessing the risk from low-dose ionizing radiation to a single plant cell. *Journal of environmental radioactivity*, 2014, vol. 136, p. 10-15.

SHABALA, Sergey, et al. Root-to-shoot signalling: integration of diverse molecules, pathways and functions. *Functional Plant Biology*, 2015, vol. 43, no 2, p. 87-104.

SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia horticultrae*, 1998, vol. 78, no 1-4, p. 5-38.

SHI, Yu, et al. Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, vol. 78, p. 27-36.

SIES, Helmut. Findings in redox biology: From H₂O₂ to oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, vol. 295, no 39, p. 13458-13473.

SINGH, Ajay. Soil salinity: A global threat to sustainable development. *Soil Use and Management*, 2022, vol. 38, no 1, p. 39-67.

SILVA, F. M. L., et al. Low doses of glyphosate change the responses of soyabean to subsequent glyphosate treatments. *Weed Research*, 2016, vol. 56, no 2, p. 124-136.

SPARROW, Arnold H.; SCHWEMMER, Susan S.; BOTTINO, P. J. The effects of external gamma radiation from radioactive fallout on plants with special reference to crop production. *Radiation Botany*, 1971, vol. 11, no 2, p. 85-118.

SPINONI, Jonathan, et al. A new global database of meteorological drought events from 1951 to 2016. *Journal of Hydrology: Regional Studies*, 2019, vol. 22, p. 100593.

STERN, Nicholas, et al. Stern Review: La economía del cambio climático. *HM Treasury*, 2007, vol. 11.

SUROVA, Lyubov, et al. Variation potential-induced photosynthetic and respiratory changes increase ATP content in pea leaves. *Journal of plant physiology*, 2016, vol. 202, p. 57-64.

SUTHERLAND, Betsy M., et al. Clustered DNA damages induced in isolated DNA and in human cells by low doses of ionizing radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, vol. 97, no 1, p. 103-108.

SWINDELL, W. R.; HUEBNER, M.; WEBER, A. P. Plastic and adaptive gene expression patterns associated with temperature stress in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity*, 2007, vol. 99, no 2, p. 143-150.

TAIR: A RESOURCE FOR INTEGRATED ARABIDOPSIS DATA. Timeline of Arabidopsis Growth Stages, 2006.

TALAT, Nazia. Alleviation of soil salinization and the management of saline soils, climate change, and soil interactions. *Climate Change and Soil Interactions*. Elsevier, 2020. p. 305-329.

TANVEER, Kinza, et al. Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium. *Journal of Plant Nutrition*, 2020, vol. 43, no 1, p. 28-35.

TANOU, Georgia; FOTOPOULOS, Vasileios; MOLASSIOTIS, Athanassios. Priming against environmental challenges and proteomics in plants: update and agricultural perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 2012, vol. 3, p. 216.

THAKUR, Meenakshi; SOHAL, Baldev Singh. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *International Scholarly Research Notices*, 2013, vol. 2013.

TESTER, Mark; DAVENPORT, Romola. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of botany*, 2003, vol. 91, no 5, p. 503-527.

THE SALT DOCTORS, et al. Webinar: Escaneo de salinidad en Chile: desafíos y oportunidades para la sustentabilidad. Programa Fruticultura Sustentable de Valparaíso, 2022.

THUILLER, Wilfried. Climate change and the ecologist. *Nature*, 2007, vol. 448, no 7153, p. 550-552.

UNIVERSIDAD DE CHILE. Informe País: Estado del Medio Ambiente en Chile. *Instituto de Asuntos Públicos, Centro de Análisis de Políticas Públicas*, 2018.

USTIN, Susan L. (ed.). *Manual of remote sensing, remote sensing for natural resource management and environmental monitoring*. John Wiley & Sons, 2004.

VANDENHOVE, Hildegard, et al. Life-cycle chronic gamma exposure of *Arabidopsis thaliana* induces growth effects but no discernable effects on oxidative stress pathways. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, vol. 48, no 9, p. 778-786.

VANHOUDT, Nathalie, et al. Primary stress responses in *Arabidopsis thaliana* exposed to gamma radiation. *Journal of environmental radioactivity*, 2014, vol. 129, p. 1-6.

VERGARA, Patricio Rojas, et al. Aplicaciones de tecnologías nucleares en conservación y mejoramiento genético forestal bajo un escenario de cambio climático. *Ciencia & Investigación Forestal*, 2018, vol. 24, no 3, p. 116-127.

VISHAL, Bhushan; KUMAR, Prakash P. Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, p. 838.

WANG, Qing-Long, et al. Metabolic reprogramming in chloroplasts under heat stress in plants. *International journal of molecular sciences*, 2018, vol. 19, no 3, p. 849.

WANG, Wangxia, et al. Papel de las proteínas vegetales de choque térmico y chaperonas moleculares en la respuesta al estrés abiótico. *Tendencias en la ciencia de las plantas*, 2004, vol. 9, nº 5, pág. 244-252.

WI, Seung Gon, et al. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. *Micron*, 2007, vol. 38, no 6, p. 553-564.

WOJTYLA, Łukasz, et al. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. *Frontiers in plant science*, 2016, vol. 7, p. 66.

WOLTERS, Hanno; JÜRGENS, Gerd. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nature Reviews Genetics*, 2009, vol. 10, no 5, p. 305-317.

XIE, Xiulan, et al. The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. *BioMed Research International*, 2019, vol. 2019.

YOKOI, Shuji; BRESSAN, Ray A.; HASEGAWA, Paul Mike. Salt stress tolerance of plants. *JIRCAS working report*, 2002, vol. 23, no 1, p. 25-33.

YOSHIMURA, Kazuya, et al. Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C3 xerophyte (wild watermelon) under water deficits. *Plant and Cell Physiology*, 2008, vol. 49, no 2, p. 226-241.

YOSHIYAMA, Kaoru Okamoto; SAKAGUCHI, Kengo; KIMURA, Seisuke. DNA damage response in plants: conserved and variable response compared to animals. *Biology*, 2013, vol. 2, no 4, p. 1338-1356.

ZHANG, Qiang, et al. Hormesis and adaptive cellular control systems. *Dose-Response*, 2008, vol. 6, no 2, p. dose-response. 07-028. Zhang.