

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



NANOPARTÍCULAS DE SELENIO APLICADAS A PLANTAS DE PEPINO
(*Cucumis sativus* L.) COMO INDUCTORAS DE TOLERANCIA AL ESTRÉS
SALINO

Tesis

Que Presenta CLAUDIA ARIANA PLIEGO ZÚÑIGA

Como requisito parcial para obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Septiembre, 2019

NANOPARTÍCULAS DE SELENIO APLICADAS A PLANTAS DE PEPINO
(*Cucumis sativus* L.) COMO INDUCTORAS DE TOLERANCIA
AL ESTRÉS SALINO

Tesis

Elaborada por CLAUDIA ARIANA PLIEGO ZÚÑIGA como requisito parcial para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor Principal

Dra. Susana González Morales
Asesor

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor

Dr. Gregorio Cadenas Pliego
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado UAAAN

Agradecimientos

A mis asesores, por su apoyo constante en el desarrollo de este proyecto. Por compartir sus conocimientos y ser un ejemplo para seguir.

Al posgrado de la Maestría en Ciencias en Horticultura por la aportación de los profesores a mi formación y la contribución del personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado.

A Ely por tu apoyo y tiempo, gracias por todos los buenos recuerdos que dejaste en mi vida.

A mis compañeros y amigos por su compañía, consejos y tiempo compartido gracias por sus palabras de ánimo y apoyo

Dedicatorias

A mis padres por su confianza y apoyo incondicional en mis metas, por su ejemplo y amor, gracias por nunca dejarme sola, los amo.

A mis hermanos por ser un ejemplo de valentía y esfuerzo, por cuidarme y aconsejarme.

Índice General

Agradecimientos	iv
Dedicatorias	iii
Índice General.....	v
Lista de Figuras	vii
Lista de Tablas.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos particulares	2
Hipotesis	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Salinidad.....	3
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	4
Nanotecnología	5
Nanotecnología en la agricultura	5
Selenio.....	7
Nanopartículas de selenio	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Ubicación del experimento	11
Establecimiento y desarrollo del cultivo.....	11
Tratamientos	12
Parámetros de crecimiento del cultivo.....	12
Variables evaluadas I	13
Variables evaluadas II	13
Calidad de fruto	14
Extracción de biomoléculas	14
Pigmentos fotosintéticos y antioxidantes no enzimáticos	15
Enzimas antioxidantes y PAL	17
Capacidad antioxidante	20
Contenido mineral de fruto	21
Análisis estadístico	21

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 22
 Etapa I 22
 Etapa II 34
CONCLUSIONES 46
REFERENCIAS 47

Lista de Figuras

Figura 1. Micrografía de NPs Se de tamaño 2nm a 20nm.	11
---	----

Lista de Tablas

Tabla 1. Crecimiento, desarrollo y productividad de pepino con aplicación de selenio.	23
Tabla 2. Calidad de fruto de pepino con aplicación de selenio.	24
Tabla 3. Pigmentos fotosintéticos en hojas de pepino.	26
Tabla 4. Antioxidantes no enzimáticos en fruto de pepino con aplicación de selenio.	28
Tabla 5. Actividad enzimática en fruto de pepino con aplicación de selenio.	30
Tabla 6. Capacidad antioxidante ABTS y DPPH en fruto de pepino con aplicación de selenio.	32
Tabla 7. Macroelementos contenidos en fruto de pepino con aplicación de selenio.	33
Tabla 8. Microelementos contenidos en fruto de pepino con aplicación de selenio.	34
Tabla 9. Variables de crecimiento y productividad.	36
Tabla 10. Propiedades químicas de frutos de pepino con y sin estrés salino y aplicaciones de selenio.	38
Tabla 11. Pigmentos fotosintéticos en hojas de plantas de pepino.	40
Tabla 12. Compuestos antioxidantes no enzimáticos en hojas y frutos de pepino.	42
Tabla 13. Compuestos enzimáticos antioxidantes y fenilalanina amonio liasa en hojas y fruto de pepino.	45

RESUMEN

NANOPARTÍCULAS DE SELENIO APLICADAS A PLANTAS DE PEPINO
(*Cucumis sativus* L.) COMO INDUCTORAS DE TOLERANCIA AL ESTRÉS
SALINO

POR

CLAUDIA ARIANA PLIEGO ZÚÑIGA

MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO -ASESOR-

Saltillo, Coahuila

Septiembre del 2019

El pepino es una hortaliza de gran importancia a nivel mundial por la diversidad de usos en el ámbito alimenticio y cosmético, deseado por sus características antioxidantes y minerales. El incremento en la demanda de superficie cultivable a nivel mundial y la sobre explotación de los suelos ya utilizados en la producción ha dado como consecuencia la acumulación de sales en los suelos y agua de riego. Esto afecta la producción de cultivos por lo cual es necesario buscar alternativas para la producción de alimentos en los lugares con afectaciones. La nanotecnología ha contribuido a la ciencia de la agronomía para el desarrollo de nuevas técnicas de mejoramiento, fertilización y bioestimulación de plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las nanopartículas de selenio (NPsSe) en plantas y frutos de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo estrés salino. Se estableció un diseño de bloques completos al azar con seis tratamientos: un control, (NPsSe) a 20 mg L⁻¹, NPsSe 50 mg L⁻¹, plantas con estrés salino (Sal), Sal+NPsSe 20 mg L⁻¹ y Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹. Los resultados muestran que la aplicación de NPsSe a 20 mg L⁻¹ en plantas con estrés salino aumentó la producción sin disminuir el porte de la planta. La aplicación de NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹ no disminuye el rendimiento en las plantas. En plantas con estrés salino aumentó el contenido de sólidos solubles totales (SST) de los frutos. En hojas, aumenta la actividad de superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APX), la dosis de NPsSe 50 mg L⁻¹ aumentó el contenido de flavonoides en hoja y GPX en el fruto.

Palabras clave: Nanopartículas, Salinidad, Selenio, Actividad enzimática, Antioxidantes.

ABSTRACT

SELENIUM NANOPARTICLES APPLIED TO CUCUMBER PLANTS (*CUCUMIS SATIVUS* L.) AS SALINE STRESS TOLERANCE INDUCERS

BY

CLAUDIA ARIANA PLIEGO ZÚÑIGA

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO -ADVISER-

Saltillo, Coahuila

September 2019

Cucumber is a vegetable of great importance worldwide for the diversity of uses in the food and cosmetic field, desired for its antioxidant and mineral characteristics. The increase in demand for arable land worldwide and the overexploitation of soils already used in production has resulted in the accumulation of salts in soils and irrigation water. This affects crop production so it is necessary to look for alternatives for food production in places with affectations. Nanotechnology has contributed to the science of agronomy for the development of new techniques for plant breeding, fertilization and biostimulation. The objective of this work was to evaluate the effect of selenium nanoparticles (NPsSe) on cucumber plants and fruits (*Cucumis sativus* L.) under saline stress. A randomized complete block design was applied with six treatments: one control, (NPsSe) at 20 mg L⁻¹, NPsSe 50 mg L⁻¹, plants with saline stress (50 Mm NaCl), Salt+NPsSe 20 mg L⁻¹ and Salt+NPsSe 50 mg L⁻¹. The results found that the application of NPsSe to 20 mg L⁻¹ in plants with saline stress increase production without decreasing the size of the plant. The application of NPsSe at 20 and 50 mg L⁻¹ unspecified yield in plants. In plants with saline stress increases the total soluble solids content (SST) of the fruits. In leaves, the activity of superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) increases, the dose of NPsSe 50 mg L⁻¹ reduces the flavonoid content in leaf and GPX in the fruit.

Keywords: Nanoparticles, Salinity, Selenium, enzymatic activity, antioxidant.

INTRODUCCIÓN

La agricultura se enfrenta a diferentes retos por los efectos negativos que provocan factores bióticos y abióticos sobre la producción de alimentos. El estrés por salinidad es la principal causa de tipo abiótico (Reigosa *et al.*, 2004). Al menos 20% de todas las tierras que se manejan bajo riego están afectadas por salinidad, sin embargo se estima que puede ser hasta un 50% de la superficie (Pilon-Smits *et al.*, 2009). La salinidad provoca en las plantas reducción de la materia seca total, contenido de clorofila, contenido relativo de agua, etc. También, reduce el crecimiento, traslocación de potasio (K) y aumenta la concentración de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Ashraf *et al.*, 2018); Weisany *et al.*, 2012). Sin embargo, aumenta la acumulación de prolina, la actividad enzimática superóxido dismutasa, peroxidasa, (Tuna *et al.*, 2008). El pepino es una hortaliza de gran importancia a nivel mundial. En México la producción llega a 566,001 toneladas por año (SIAP, 2018) dedicadas al mercado nacional y exportación. Sus principales usos radican en el consumo en fresco y la industria cosmética por lo que su demanda aumenta en gran medida.

Entre la diversidad de alternativas se ha introducido la estimulación por efecto de elementos minerales con beneficios bioestimulantes para contrarrestar el efecto negativo de estrés de tipo biótico o abiótico. Aunque el selenio es un elemento que en altas concentraciones resulta perjudicial para las plantas también puede ejercer efectos benéficos en bajas concentraciones (Mateja *et al.*, 2007). Se ha demostrado que puede contrarrestar diversos estrés abióticos inducidos en las plantas por el frío, sequía, alta luz, agua, salinidad y metales pesados, pero los mecanismos asociados resultan complicados y quedan pendientes para ser aclarados completamente (Feng *et al.*, 2012). Se ha aplicado Se en distintas formas (selenito, selenato y NPsSe), las cuales influyen de manera diferente en la planta respecto a la fabricación de compuestos.

La nanotecnología ha revolucionado la ciencia en los últimos años y ha sido aplicada a diferentes áreas de investigación. Por lo cual las NPs están siendo utilizadas para repercutir diferentes tipos de situaciones de manera que efficienten los recursos disponibles. Los nanomateriales (Nm) según la forma, tamaño, área

superficial y carga, tienen diferentes propiedades mecánicas, químicas, eléctricas y ópticas que los hacen adecuados para aplicaciones tecnológicas y, por lo tanto, se producen y modifican cada vez más (Chichiriccò y Poma, 2015). Se han reportado beneficios de NPs para mitigar los efectos en vegetales ocasionados por salinidad en el suelo, donde varios informes han confirmado el papel favorable del Se en la planta bajo estas condiciones en el suelo (El-Ramady et al., 2018).

Por lo anterior esta investigación tiene como objetivo determinar el efecto de las nanopartículas de selenio en las plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo estrés salino.

Objetivos particulares

- Evaluar los efectos fisiológicos por estrés salino en las plantas.
- Determinar si la aplicación de nanopartículas de selenio influye en la morfología de las plantas bajo estrés salino.
- Determinar si la aplicación de nanopartículas de selenio modifica el contenido de antioxidantes.

Hipotesis

La aplicación de nanopartículas de selenio tendrá un efecto positivo en la tolerancia al estrés salino debido al incremento de antioxidantes.

REVISIÓN DE LITERATURA

Salinidad

La salinidad es un problema cada vez más común por el excesivo uso de suelos en la agricultura y el tipo de manejo en la fertilización que ha desencadenado la acumulación de sales, por ello, es la principal causa de estrés abiótico en la agricultura bajo riego. El desarrollo y crecimiento de las plantas son afectados negativamente por la salinidad (un estrés ambiental importante que limita la producción agrícola) (Läuchli y Grattan, 2007).

Los suelos salinos con bajo potencial agrícola frecuentemente se encuentran en las regiones cálidas y secas del mundo (Glick *et al.*, 2007). La salinidad causa acumulación de nutrientes en más de 100 millones de hectáreas agrícolas convirtiéndolas en áridas, esto da como resultado bajos rendimientos en los cultivos, (Athar y Ashraf, 2009). Las consecuencias de ello llegan hasta el consumo de alimentos y causa una nutrición humana pobre, una reducida educación y oportunidades de empleo como repercusiones secundarias.

Un suelo salino se define generalmente como aquel en el que la conductividad eléctrica (CE) del extracto de saturación (EC_e) en la zona de la raíz excede 4 dS m^{-1} (aproximadamente 40 mM NaCl) a 25 °C y tiene un sodio intercambiable del 15% (Shrivastava y Kumar, 2015).

La capacidad de las plantas para tolerar las sales del suelo está determinada por múltiples vías bioquímicas que facilitan la retención o adquisición de agua, protegen las funciones del cloroplasto y mantienen la homeostasis de iones (Parida y Das, 2005).

Munns, (2002) menciona que la salinidad reduce la capacidad de absorción de agua, causando rápidamente una disminución en la tasa de crecimiento, cambios metabólicos causados por estrés hídrico y disminución en la transpiración, todo ello influye de forma negativa en el rendimiento.

Por esto es considerada entre los factores ambientales más severos que limitan la productividad de plantas de cultivo ya que la mayoría de las plantas cultivadas es sensible a la salinidad causada por altas concentraciones de sal en el suelo,

además de que la superficie de tierra afectada por éste crece día a día (Shrivastava y Kumar, 2015).

Gama *et al.*, (2009) en un estudio realizado en frijol, obtuvieron resultados que señalan que el potencial osmótico en la hoja de las plantas es afectado directamente en proporción al aumento en la concentración de cloruro de sodio (NaCl) como estrés salino. Ashraf *et al.*, (2018) observaron que la salinidad reduce el crecimiento, la concentración de clorofila y potasio (K), además de aumentar la toxicidad de Na y el daño oxidativo (H₂O₂). Leyva *et al.*, (2011) encontró que los procesos iónicos son afectados debido a la salinidad.

Se han buscado alternativas para reducir los efectos generados por la salinidad en cultivos de interés agrícola. Como la generación de líneas transgénicas de algunas especies de cultivos que pueden crecer y desarrollarse a niveles de salinidad bastante altos en ambientes controlados (Pitman y Läuchli, 2002).

Pepino (*Cucumis sativus* L.)

El género *Cucumis* contiene más de 30 especies, de las cuales dos son cultivos económicamente importantes, a saber, el pepino (*C. sativus* L.) y el melón (*C. melo* L.), el primero se reporta entre los diez principales cultivos vegetales producidos a nivel mundial siendo China el principal productor a nivel mundial (Plader *et al.*, 2007). En México, el SIAP, (2018) reporta cifras de 14,675 has de superficie sembrada de cultivo de pepino a nivel nacional con una producción total de 566,001 ton al año y un rendimiento de 53.978 ton ha⁻¹.

Su gran importancia comercial recae en la calidad del producto obtenido. El extracto del fruto de pepino contiene principalmente ácido ascórbico (vitamina C) y ácido cafeico, lo que da un efecto calmante sobre la piel y reduce la hinchazón (Mukherjee *et al.*, 2013). Tiene un alto contenido de agua y bajo valor calórico, potencial antidiabético y actividad antioxidante, se utiliza para nutrir la piel, da un efecto calmante contra irritaciones y reduce la inflamación (Mukherjee *et al.*, 2013). Sudha *et al.*, (2012) describen su excelente capacidad antioxidante, por lo que claramente posee un gran potencial para uso como un agente antioxidante natural y posiblemente como un suplemento alimenticio.

Nanotecnología

La nanociencia surgió en la década de 1980, fue desarrollada y aplicada en China desde mediados de 1990 (Huang, 2014). Sharma *et al.*, (2012) definen a la nanotecnología como la comprensión y el control de la materia a escala nanométrica, en dimensiones entre aproximadamente 1-100 nanómetros, donde fenómenos únicos como la mejora de propiedades físicas, químicas y biológicas permiten aplicaciones novedosas.

Entre sus aportaciones, ofrece una gran promesa en el área de prevención y detección de contaminación por explotación de propiedades de los nanomateriales, puede aumentar la producción agrícola e impulsar la industria alimentaria a través de la aplicación de estas propiedades únicas (Baruah y Dutta, 2009). Además, hay variedad de productos donde se ha aplicado la nanotecnología y se está encontrando el empleo en las industrias como dispositivos médicos, imágenes, deportes, biosensores, electrónica, medicamentos, limpieza ambiental, cosméticos y protectores solares (NCPI, 2011).

En la industria alimentaria, ha sido aplicada una amplia gama de materiales nanoestructurados (NSMs), metales inorgánicos y nanocompuestos de los materiales nano-orgánicos con agentes bioactivos (Bajpai *et al.*, 2018).

Nanotecnología en la agricultura

En relación con la extensión de la vida útil de los productos hortícolas, la nanotecnología puede ayudarnos en algunos aspectos, por ejemplo: controlando el crecimiento y desarrollo de microorganismos, introduciendo una nueva generación de cobertura de empaque (películas) y controlando la influencia de los gases y los rayos dañinos (UV), aumentando la resistencia, calidad y presentación del empaque, y utilizando los múltiples chips (Nanobiosensores) (Yadollahi *et al.*, 2010).

Las NPs poseen el potencial de liberar de forma controlada los agroquímicos y administrar específicamente el sitio de varias macromoléculas que requieren una mejor utilidad como los nutrientes, resistencia a enfermedades y mayor

crecimiento de las plantas (Nair *et al.*, 2010). También tienen aplicaciones diversas, en cuanto a los sistemas de suelos y plantas, pueden ayudar en: la protección contra plagas y patógenos, protección y formación de estructura de suelo y detección de enfermedades de plantas y contaminantes (Ghormade *et al.*, 2011). Adicional a esto, en la agricultura, el uso de la nanotecnología se ha aplicado en reguladores de crecimiento (Özer *et al.*, 2014).

Las características particulares de las NPs son físicas como agregación de partículas y fotoemisión, conductividad eléctrica y de calor además de propiedades químicas como actividad catalítica (Liu, 2006). Esto favorece el efecto positivo en las plantas. La aplicación de estas en vegetales puede favorecer la eficiencia de compuestos bioquímicos (Giraldo *et al.*, 2014). El tamaño y su constitución química es de gran importancia para definir su comportamiento efectivo o dañino en plantas (Monica *et al.*, 2017).

Tienen propiedades fisicoquímicas únicas, como elevada área de superficie, alta reactividad, tamaño de los poros regulables y morfología (Siddiqui *et al.*, 2015). La importancia del impacto positivo o negativo en las plantas radica en la ingeniería de NPs de lo que depende su composición, concentración y propiedades químicas y físicas, así como las especies de plantas (Ma *et al.*, 2010). Navarro *et al.*, (2008) también reportan sobre los efectos indirectos de la ingeniería aclarando que puede haber restricciones físicas (obstrucción) o la producción de especies reactivas de oxígeno.

Aouada y Moura, (2015) mencionan que se han utilizado varios nanoestructurados o materiales de dimensiones nanométricas como vehículos transportadores en la liberación controlada de agroquímicos debido a su biodegradabilidad, baja toxicidad, bajo costo, alta reproducibilidad, preparación fácil, rápida caracterización, absorción de agua y propiedades reversibles.

Los efectos en los cultivos varían mucho según las especies de plantas, las etapas de crecimiento, las condiciones de crecimiento, el método, la dosis y la duración de la exposición de las NPs junto con otros factores (Rizwan *et al.*, 2016).

La entrada de las NPs a las plantas esta mediada por su tamaño, donde la pared celular funciona como barrera ante agentes externos, por ello el tamizado actúa como un factor relevante en su entrada a los tejidos vegetales, entonces un tamaño menor a los poros ubicados en las paredes celulares facilitarán el acceso a la membrana plasmática (Navarro et al., 2008; Fleischer *et al.*, 1999; Nair *et al.*, 2010).

Algunas NPs afectan el crecimiento de las plantas, la estructura celular y las funciones fisiológicas y bioquímicas (Rico *et al.*, 2015). Influyen en diferentes antioxidantes y enzimas de bajo peso molecular como catalasa (CAT), guaiacol peroxidasa (GPOX), ascorbato peroxidasa (APX), superóxido dismutasa (SOD), glutatión reductasa (GR) y deshidroascorbato reductasa (DHAR) que constituyen el sistema de defensa en las plantas (Rico *et al.*, 2013). Estas enzimas tienen la capacidad de actuar ante la aplicación excesiva de nanopartículas o compuesto determinado.

Selenio

El selenio (Se) existe en diferentes lugares del mundo en el medio ambiente, así como en diferentes formas químicas por lo que su acumulación por actividades antropogénicas provoca desbalances en suelos y agua principalmente. Además, las concentraciones de Se en determinado lugar están dadas principalmente por la geología del espacio.

El Se está agrupado en los metaloides y es fundamental para la salud del ser humano y animales en pequeñas cantidades, pero es perjudicial en exceso (Fordyce, 2013). Compone varias enzimas que sin el llegan a ser inactivas por lo cual es considerado esencial para el ser humano. En general, los efectos en la salud humana son diversos y complejos, por lo que es necesario realizar más investigaciones para optimizar los beneficios de este elemento traza (Rayman, 2012).

Un estudio sobre la distribución de Se en China (agua, suelo y alimentos) reporta que el contenido de este elemento en el suelo que es trasladado a granos, vegetales y frutos utilizados en la dieta humana es baja, excepto en áreas de

suelo con alto rango de Se disponible (Toan *et al.*, 2018). Lo anterior recae en el bajo o nulo consumo de Se en la población. En las frutas producidas en estos lugares es particularmente escaso y depende del tamaño y fisiología de las plantas así como la eficiencia de traslocación hasta los frutos.

El contenido medio de Se en las frutas producidas en China está en el rango de 0.0007 a 0.124 mg kg⁻¹. Por otra parte, el contenido en las frutas en Australia, Brasil y Estados Unidos fue de 0.001 a 0.022 mg kg⁻¹ (Tinggi, 2003).

La información reportada sobre el Se indica que añade protección a algunas plantas ante ciertos factores de estrés bióticos o abióticos por lo que se considera como un elemento benéfico (Hanson *et al.*, 2004). Se ha utilizado para contrarrestar diversos tipos de estrés ambientales inducidos en las plantas por el frío, sequía, alta radiación, agua, salinidad y metales pesados, pero los mecanismos de protección asociados son algo complicados (Feng *et al.*, 2012). Ya que son activados para poder aliviar el estrés oxidativo en los cloroplastos (Seppänen, Turakainen, y Hartikainen, 2003).

Los factores de acumulación y distribución de Se en plantas están relacionados con la solubilidad en la solución nutritiva y los regímenes de transpiración y competencia que se desarrollan internamente (Renkema *et al.*, 2012). Además de la forma de absorción donde destacan los transportadores del azufre (S) específicamente, los cuales utilizan el Se para ingresar de manera fácil, las enzimas y la esencialidad de estos elementos (Athar y Ashraf, 2009).

La semejanza química y física entre el Se y azufre (S) establece que estos dos elementos comparten vías metabólicas comunes en plantas (Sors *et al.*, 2005). Así como la capacidad de la planta para discernir entre ambos por sus características y necesidades habituales o extraordinarias ante un estrés.

Los antioxidantes de moléculas pequeñas que contienen S y Se son capaces de disminuir el daño oxidativo generado en los tejidos vegetales, y las células emplean múltiples mecanismos antioxidantes para prevenir el daño celular (Battin y Brumaghim, 2009). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se producen en células estresadas y no estresadas.

Tomando en cuenta lo anterior, también se han hecho experimentos en plantas con enriquecimiento de Se a modo de producir alimentos ricos en este elemento como una forma efectiva de ingerirlo para beneficio de la salud (Mateja *et al.*, 2007).

El Se y selenito de sodio (S.S.) se transporta a través de la cutícula de la planta y se asimila por la vía metabólica del azufre. Skalickova *et al.*, (2017) realizaron un experimento donde aplicaron Se a plantas de pepino para determinar su efecto ante un estrés por bajas temperaturas y observaron que a concentraciones de 2.5-10 μM se modifica la respuesta fisiológica de la planta mediante el aumento de prolina en hojas y disminución de la peroxidación lipídica en las raíces.

Ožbolt *et al.*, (2008) aplicaron Se como selenato (SeO_4)² y (Na_2SeO_3) a 10 y 20 mg L^{-1} en semillas de alforfón (*Fagopyrum esculentum*) expuestas a UV-B y observaron una mayor acumulación de Se en hojas mediante la aplicación de selenato. Además se ha utilizado el Se para la biofortificación de algunos alimentos, Guardado-Félix *et al.*, (2017) aplicaron selenito de sodio a diferentes concentraciones (0, 1 y 2 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de semillas) concluyendo que los germinados de garbanzo obtenidos son ricos en este elemento y pueden ser utilizados como una buena fuente para la ingesta humana.

También, Wu *et al.*, (2015) mencionan que puede ser utilizado como una fuente de fertilizante para biofortificación en cultivos básicos o habitualmente utilizados como forraje (arroz, maíz y trigo). Saffaryazdi *et al.*, (2012) observaron efectos benéficos en el crecimiento y contribución de otros iones a espinacas mediante la adición de Se para una mejor calidad de este producto.

Además se ha aplicado para disminuir el efecto producido por metales pesados, Hu *et al.*, (2014) probaron que la aplicación de Se aumenta su concentración en el grano de arroz y disminuye la acumulación de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en los tejidos del cultivo desarrollado en suelo con altas concentraciones de estos. La adición de Cd y Se de forma simultánea provoca la acumulación de Cd en las raíces evitando que este sea traslocado hasta el fruto, de esta manera disminuye los efectos tóxicos en la planta (Pedrero *et al.*, 2008). La necesidad de este elemento se centra en el mantenimiento de la salud y crecimiento; sin embargo,

su toxicidad puede causar serios daños dependiendo de la dosis y forma química en la que se suministre (Skalickova *et al.*, 2017). La incorporación del Se en el organismo es en selenoproteínas que tienen una amplia gama de efectos en humanos, que van desde efectos antiinflamatorios y antioxidantes a la producción de la hormona tiroidea activa (Rayman, 2012). Es decir, puede actuar genéticamente provocando efectos fenotípicos diversos.

Nanopartículas de selenio

Domokos-Szabolcsy *et al.*, (2012) observaron que las NPs de Se estimulan significativamente la organogénesis y el crecimiento del sistema radicular de las plantas.

Se ha reportado un papel distinguido de nutrientes vegetales (N, K, Se y Si) en el mejoramiento de estrés de salinidad del suelo, así como nano-Se donde varios informes han confirmado el gran papel de estos nutrientes en la planta bajo condiciones de salinidad en el suelo (El-Ramady *et al.*, 2018).

Las nanopartículas de selenio (NPsSe) representan lo que se cree que es una nueva perspectiva para la suplementación nutricional debido a su menor toxicidad y capacidad para liberar gradualmente selenio después de la ingestión (Skalickova *et al.*, 2017).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

Este estudio se realizó en un invernadero ubicado en el Departamento de Horticultura dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila, México 25° 21' 5" de latitud norte y 101° 1' 47" de longitud oeste, elevación 1.742 msnm. La síntesis de NPsSe se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA), con ubicación en Saltillo, Coahuila, México, utilizando la metodología definida por Cadenas-Pliego *et al.*, (2013). La forma de las NPsSe fue esférica y el tamaño promedio es de 20 nm. El presente experimento consistió en dos etapas.

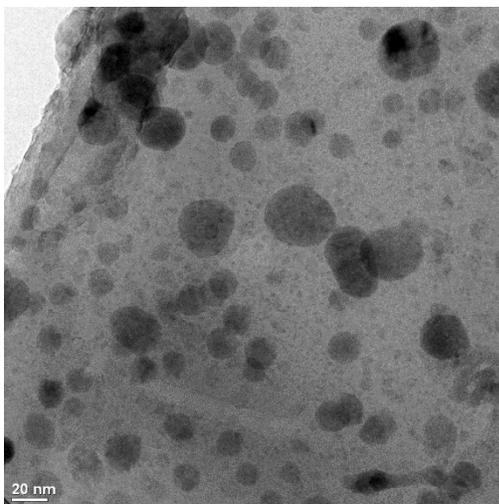


Figura 1. Micrografía de NPs Se de tamaño 2nm a 20nm.

Establecimiento y desarrollo del cultivo

Para el experimento el cultivo fue establecido por siembra directa en bolsas negras de polietileno con capacidad de 4 L, el sustrato utilizado fue turba y perlita en relación 1:1 y la semilla de pepino fue de la variedad Vitaly (Syngenta ®). El cultivo se desarrolló a un solo tallo, el riego fue dirigido con solución nutritiva según Steiner, (1961). En cuanto a los micronutrientes fueron proporcionados en forma quelatada de la siguiente manera: EDTA (2,20,200,2000-[etano-1,2-diildinitrilo] ácido tetraacético), Fe EDTA= 3.75 mg L⁻¹; Mn EDTA= 1.85 mg L⁻¹; B=0.35 mg L⁻¹; Zn EDTA= 0.30 mg L⁻¹; Cu EDTA= 0.15 mg L⁻¹; Mo= 0.10 mg L⁻¹,

se ajustó el pH a 6.6 agregando ácido sulfúrico (H_2SO_4) al ser preparada la solución.

Tratamientos

En la etapa I se establecieron siete tratamientos: un control de agua destilada, nanopartículas de selenio (NPsSe) a 1, 10 y 20 mg L^{-1} y Selenito de sodio (S.S.) a 1, 10 y 20 mg L^{-1} . La aplicación de tratamientos fue por aspersion. La primera aplicación se realizó a los 26 días después de la siembra, y posteriormente se realizaron 4 más cada 14 días. La totalidad de volumen de aplicación por planta fue de 180 mL. El selenito de sodio (Na_2SeO_3) aplicado fue de Sigma Aldrich.

En la etapa II los tratamientos fueron: un control (agua destilada), NPsSe 20 mg L^{-1} , NPsSe 50 mg L^{-1} , Sal (NaCl a 50 mM), Sal+NPsSe 20 mg L^{-1} y Sal+NPsSe 50 mg L^{-1} . La aplicación de NPsSe fue directa al sustrato, se agregaron un total de 40 mL por planta, distribuida en cuatro aplicaciones de 10 mL cada 15 días a partir de la aparición de la cuarta hoja verdadera en la planta de pepino. La dosificación de cloruro de sodio (NaCl) fue suministrada junto con la solución nutritiva en un sistema de riego localizado.

Parámetros de crecimiento del cultivo

En el cultivo de la etapa I se realizó el corte del ápice principal de las plantas a los 103 días y en la etapa II a los 98 días después de la siembra. La altura de la planta se midió con un flexómetro, desde la superficie del sustrato hasta el ápice principal de crecimiento. Para el diámetro de tallo, la medición se hizo con un calibre en la base del tallo. Se obtuvo el número de frutos y rendimiento por planta, donde es considerado el peso total de los frutos cosechados por planta. Por otra parte, se midió el largo y diámetro de cada fruto cosechado con una regla y un calibre respectivamente.

Variables evaluadas I

Crecimiento y productividad: Número de hojas, altura de planta, diámetro de tallo, número de frutos por planta, peso total de frutos por planta, largo promedio de frutos, diámetro promedio de frutos.

Firmeza y calidad: Firmeza, pH, conductividad eléctrica, sólidos solubles totales, potencial oxido reducción, acidez titulable.

Pigmentos fotosintéticos: Clorofila a, clorofila b y clorofila total.

Antioxidantes no enzimáticos: Vitamina C, flavonoides, fenoles, licopeno, glutatión reducido.

Actividad enzimática y Fenilalanina amonio liasa (PAL): Ascorbato peroxidasa, glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, fenilalanina amonio liasa.

Actividad antioxidante: DPPH Y ABTS de compuestos hidrofílicos, lipofílicos y total.

Macronutrientes: Calcio, potasio, magnesio, sodio, fósforo, azufre.

Micronutrientes: Selenio, cobre, manganeso, molibdeno, níquel y zinc todo ello en frutos.

Las metodologías utilizadas para estas evaluaciones son descritas más adelante.

Variables evaluadas II

Crecimiento y productividad: Número de hojas, altura de planta, diámetro de tallo, número de frutos por planta, peso total de frutos por planta.

Firmeza y calidad: Firmeza, pH, conductividad eléctrica, sólidos solubles totales, potencial oxido reducción, acidez titulable.

Pigmentos fotosintéticos: Clorofila a, clorofila b, clorofila total.

Antioxidantes no enzimáticos: Proteínas, vitamina C, flavonoides, fenoles, glutatión reducido.

Actividad enzimática y Fenilalanina amonio liasa (PAL): Actividad de ascorbato peroxidasa, glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, fenilalanina amonio liasa.

Las metodologías utilizadas para estas evaluaciones son descritas a continuación.

Calidad de fruto

Fueron seleccionados seis frutos maduros por cada tratamiento para la evaluación de calidad, cada uno de plantas diferentes, inmediatamente se lavaron y se llevó a cabo el análisis. Las variables:

Firmeza. Se tomaron tres puntos del fruto diferentes para obtener una media de estos, para ello se utilizó un penetrómetro manual (WAGNER Instruments, modelo FDK 20, modelo Greenwich, CT, EU).

Conductividad eléctrica (CE) y potencial de hidrogeno (pH). Se midió con un potenciómetro digital HI98130 (Hanna Instruments).

El contenido de sólidos solubles totales (SST). Se evaluó en pulpa de la fruta (con refractómetro Atago).

La acidez titulable (AT). Se determinó por colorimetría por AOAC, (2000). Se utilizaron 10 mL de pulpa de fruta y se añadieron 2 gotas de fenolftaleína (1%), posteriormente se tituló con NaOH (0.1N) hasta obtener una coloración rosácea.

$$\%acidez = \frac{V_{NaOH} * N_{NaOH} * meq \text{ ácido cítrico} * 100}{V \text{ muestra}}$$

Donde:

V_{NaOH} = volumen gastado de NaOH para titular. N_{NaOH}= Normalidad del NaOH. meq ácido cítrico= 0.064. V muestra= 10 mL. La acidez titulable se expresa cómo % de ácido cítrico.

El potencial oxido-reducción (ORP). Se midió con un potenciómetro.

Extracción de biomoléculas

Se recolectaron seis frutos por tratamiento para la determinación de compuestos bioactivos. Los frutos se llevaron a un Ultra congelador a -80°C. Se colocaron en recipientes de plástico y se liofilizaron durante 96 horas a -84 °C a 0.060 mbar en un liofilizador (Labconco, modelo FreeZone 2.5 L, Kansas City, MO, EU.). Las muestras se maceraron hasta obtener un polvo fino para efectuar su análisis. Para la obtención de Extracto enzimático (EE) utilizado en la cuantificación de compuestos enzimáticos y no enzimáticos, se pesaron 200 mg del fruto liofilizado 20 mg de polivinilpirrolidona en microtubos. Posteriormente se agregó 1.5 mL de buffer de fosfatos con pH de 7-7.2 (0.1M), se colocaron en sonicación por 5

minutos en un sonicador y se colocaron las muestras en una microcentrífuga a 15 000 RPM durante 15 minutos a 4°C. Se recolectó el sobrenadante con una jeringa de plástico y se filtró con filtros para jeringa de membrana de PVDF 0.45 micras de poro. Las diluciones se prepararon en proporción (1:20) utilizando Buffer de fosfatos para proteínas, glutatión peroxidasa, ascorbato peroxidasa, fenilalanina amonio liasa, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reducido, capacidad antioxidante por ABTS y DPPH (compuestos hidrofílicos).

En cuanto a la extracción de los compuestos lipofílicos se realizó el mismo método utilizando hexano: acetona 3:2 (v:v) en lugar de buffer de fosfatos. Con este extracto obtuvo la capacidad antioxidante ABTS y DPPH (compuestos lipofílicos).

Pigmentos fotosintéticos y antioxidantes no enzimáticos

Clorofilas, Licopeno y β caroteno. Se determinaron con el método descrito por (Nagata y Yamashita, 1992). Se pesaron 10 mg de tejido liofilizado, se agregaron 2 mL de Hexano: Acetona (3:2) y se mezcló en el vortex. Se tomó una alícuota y se midió la absorbancia a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro UV-VIS.

La cuantificación se realizó a partir de las absorbancias obtenidas realizando los cálculos siguientes:

$$\text{Clorofila } a = 0.999\text{Abs}_{663} + 1.77\text{Abs}_{645}$$

$$\text{Clorofila } b = 0.328\text{Abs}_{663} + 1.77\text{Abs}_{645}$$

$$\text{Licopeno} = -0.0458 \times \text{Abs}_{663} + 0.204 \times \text{Abs}_{645} + 0.372 \times \text{Abs}_{505} \\ - 0.0806 \times \text{Abs}_{453}$$

$$\beta \text{ caroteno} = 0.216 \times \text{Abs}_{663} - 1.220 \times \text{Abs}_{645} - 0.304 \times \text{Abs}_{505} \\ + 0.452 \times \text{Abs}_{453}$$

El total de clorofilas totales es la suma de clorofila a y b. Todos los datos se expresan en mg de 100 g⁻¹ de peso seco (mg 100 g⁻¹ PS). Los resultados fueron expresados en miligramos por cada 100 g de peso seco (mg 100 g⁻¹ PS).

Proteínas (P): Se determinó bajo la metodología descrita por Bradford, (1976), se agregó en un pocillo de microplaca 5 μL de EE y 250 μL de reactivo Bradford B6916 (SIGMA), se mezcló ligeramente y se dejó incubar a temperatura ambiente por 10 minutos.

Cuantificación:

$$Cx = \frac{Cs * FD * V}{M}$$

Donde: Cx=Concentración en mg g^{-1} . Cs=Concentración obtenida en la ecuación de la recta (ppm). FD=Factor de dilución. V=Volumen utilizado en la difusión de la muestra. M=Masa total utilizada en la extracción.

Los resultados fueron expresados en mg g^{-1} de PS.

Glutación (GSH). Esta cuantificación se desarrolló según Xue *et al.*, (2001) por la técnica de reacción de 5,5-dithiobis-2 ácido nitrobenzoico (DTNB). Se colocaron en un microtubo de 2 mL: 0.32 mL de EE, 1.466 mL de Na_2HPO_4 (0.32 M), 0.213 mL de DTNB (1mM), se mezcló en un vortex. Se colocó la muestra en una celdilla de cuarzo y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 412 nm, estas serán interpoladas en la ecuación de la curva de calibración realizada con GSH, esta curva se realizará con estándares a una concentración de 0.02 a 1 mM. Para los estándares y el blanco se realizó el mismo procedimiento. Los valores obtenidos se sustituirán en la siguiente formula y se reportará como actividad específica. Los valores obtenidos se reportan en mM de GSH por mL por min.

Compuestos fenólicos totales. Se determinaron de acuerdo con la metodología de Singleton *et al.*, (1999), la muestra (0.1 g) se extrajo con 1 mL de una solución de agua: acetona 1:1 (v:v). La muestra se sometió a vortex, se sonicó por 5 minutos y se microcentrifugó a 15 000 RPM por 15 min a 4°C. Se extrajo el sobrenadante, de este se colocó en un microtubo 0.018 mL de extracto, 0.70 mL de Folin-Ciocalteu, 0.18 mL de Na_2CO_3 (20%) Y 1.8 mL de agua destilada. Se mezcló con un vortex y se colocaron en baño maría a 45°C por 30 min. Se colocó la muestra en una celdilla de cuarzo y se leyó cada muestra a 750 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Los resultados se expresan en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco ($\text{mg de EGA } 100 \text{ g}^{-1}$ PS).

Flavonoides. Se determinaron por el método de Dowd's, adaptado por Arvouet-Grand *et al.*, (1994) utilizando una solución de tricloruro de aluminio (AlCl₃) al 2% en metanol. Se pesó 0.1 g de tejido liofilizado, se agregaron 2 mL de metanol grado reactivo y se mezcló en un vortex, se filtró con un filtro Whatman N° 1. Se tomaron 0.02 mL de extracto, 0.98 mL de Metanol y 1 mL de AlCl₃ (20%). Posteriormente con una celdilla de cuarzo se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. El contenido total de flavonoides fue determinado usando una curva de calibración con quercetina (0-50 ppm) en metanol, los resultados fueron expresados en miligramos Equivalentes de Quercetina por 100 gramos de peso seco (mg EQ 100 g⁻¹ PS).

Vitamina C. Se realizó según Padayatt *et al.*, (2001) por titulación, a partir de 10 g de peso fresco de fruto, se macera en mortero con 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 2% (v/v) y se homogeneizó macerando hasta que quedó el tejido totalmente transparente, después se filtra la mezcla homogénea a través de una gasa absorbente estéril sobre un matraz de aforación. Aforar a 100 mL con agua destilada, tomar una alícuota de 10 mL del filtrado y titular con 2-6 diclorofenolindofenol hasta obtener una coloración rosácea persistente.

Cuantificación:

$$\text{Vitamina C} = \frac{\text{mL} * 0.088 * Vt * 100}{Va * Pm}$$

Donde: mL=mililitros utilizados de 2-6 diclorofenolindofenol. Vt=Volumen total. Va=Volumen de la alícuota. Pm=Peso de muestra.

Enzimas antioxidantes y PAL

Catalasa (CAT). (QE 1.11.1.6) Se realizó por la metodología descrita por Dhindsa *et al.*, (1981) midiendo 2 tiempos de reacción, tiempo 0 (T0) y tiempo 1 (T1). El blanco de calibración: 2 mL de buffer de fosfatos. Para el T0 se mezcló 0.185 mL de EE, 1.850 mL de H₂O₂ 100 mM y se midió la absorbancia, después de un minuto de reacción se midió nuevamente la absorbancia (T1). El consumo de H₂O₂ se leyó a 270 nm en el espectro de UV-VIS, usando una celdilla de cuarzo. La diferencia de las absorbancias obtenidas fue interpolada en la ecuación de la

curva de calibración realizada con H₂O₂. El resultado obtenido se sustituyó en la siguiente fórmula para reportarlo como actividad específica.

$$CAT \ U \ g^{-1} \ PT = \frac{Y * V * D \left(\frac{1}{tr}\right)}{\frac{M}{PT}}$$

Donde: Y= Concentración obtenida en la ecuación de la recta (μmol L⁻¹). V= Volumen (L). D= Factor de dilución. tr= Tiempo de reacción. M= Masa utilizada para la extracción (g). PT= Contenido de proteínas (mg g⁻¹). U= Actividad enzimática (1 μmol de sustrato convertido por min).

Superoxido dismutasa (SOD). (QE 1.15.1.1) fue realizada con el kit SOD cayman 2018. Donde una unidad de SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para exhibir un 50% de desmutación del radical superóxido. En una microplaca, se agregó en cada celdilla lo siguiente: 10 μL de extracto enzimático, 200 μL del Detector Radical, 20 μL de Xantina Oxidasa se agitó suavemente durante cinco segundos y se cubrió la microplaca se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente, enseguida se determinó la absorbancia en el Lector de Microplacas a 450 nm. Las absorbancias obtenidas fueron interpoladas en la ecuación de la curva de calibración realizada con SOD, los resultados obtenidos se sustituyeron en la siguiente formula:

$$CAT \ U \ g^{-1} \ PT = \frac{Y * V * D \left(\frac{1}{tr}\right)}{\frac{M}{PT}}$$

Donde: Y= Concentración obtenida en la ecuación de la recta (μmol L⁻¹). V= Volumen (L). D= Factor de dilución. tr= Tiempo de reacción. M= Masa utilizada para la extracción (g). PT= Contenido de proteínas (mg g⁻¹). U= Actividad enzimática (1 μmol de sustrato convertido por min).

Glutación peroxidasa (GPX). Se determinó bajo la metodología con modificación de Xue *et al.*, (2001), usando H₂O₂ como sustrato. Usando H₂O₂ como sustrato. Se mezcló en un microtubo de 2 mL: 0.2 mL de EE, 0.4 mL de Glutación Reducido (GSH) (C₁₀H₁₇N₃O₆S) a 0.1 mM, 0.2 mL de KNaHPO₄ a 0.067 M; enseguida se precalentó la muestra en un baño maría a 25 °C durante 5 minutos. Para iniciar

la reacción se agregaron 0.2 mL de H₂O₂ a 1.3 mM, 10 minutos después esta se detuvo agregando 1 mL de ácido tricloroacético (C₂HO₂Cl₃) al 1 %. Se colocaron los tubos en baño de hielo durante 30 minutos. Posteriormente se colocaron en una centrifuga a 3 000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. Se tomaron 0.35 mL del sobrenadante, se mezcló con 1.6 mL de Na₂HPO₄ a 0.32 M y 0.233 mL del colorante DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoico)) al 1 mM. Se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 412 nm con una celdilla de cuarzo, y estas fueron interpoladas en la ecuación de la curva de calibración realizada con GSH, esta curva se realizó con estándares a concentraciones de 0.02 a 1 mM. Los resultados obtenidos se sustituyeron en la siguiente formula:

$$GPX \text{ U } g^{-1} PT = \frac{Y * V * D \left(\frac{1}{tr}\right)}{\frac{M}{PT}}$$

Donde: Y=Concentración obtenida en la ecuación de la recta (µmol L⁻¹). V=Volumen (L). D=Factor de dilución. tr=Tiempo de reacción. M=Masa utilizada para la extracción (g). PT=Contenido de proteínas (mg g⁻¹). U=Actividad enzimática (1 µmol de sustrato convertido por min). U=Actividad enzimática (1 µmol de sustrato convertido por 10 min).

Ascorbato peroxidasa (APX) (1.11.1.9), se utilizó el método adaptado por Xue *et al.*, (2001) usando H₂O₂ como sustrato. En un microtubo se tomaron 0.1 mL de EE, se agregaron 0.5 mL de ácido ascórbico (40ppm) y se agregó 1 mL de H₂O₂ (100mM). Se colocó la mezcla en una celdilla de cuarzo y se leyeron las muestras a 266 nm. Las absorbancias serán interpoladas en la ecuación de la curva de calibración realizada con ácido ascórbico con estándares a concentraciones de 0 a 1 ppm. Los valores obtenidos se sustituyeron en la fórmula:

$$APX \text{ U } g^{-1} PT = \frac{Y * V * D \left(\frac{1}{tr}\right)}{\frac{M}{PT}}$$

Donde: Y=Concentración obtenida en la ecuación de la recta (µmol L⁻¹). V=Volumen (L). D=Factor de dilución. tr=Tiempo de reacción. M=Masa utilizada

para la extracción (g). PT=Contenido de proteínas (mg g⁻¹). U=Actividad enzimática (1 μmol de sustrato convertido por min).

Fenilalanina amonio liasa (PAL). Fue determinada mediante la metodología descrita por Syklowska-Baranek *et al.*, (2012) con modificaciones. En un microtubo se colocaron 0.040 mL de EE, 0.36 de Fenilalanina (6mM), incubar a Baño María por 30 min a 40°C y agregar 0.1 mL de ácido clorhídrico (5N), posteriormente se colocaron las muestras en baño de hielo y se adicionaron 2 mL de agua destilada. Cada muestra fue colocada y leída en una celdilla de cuarzo en un espectrofotómetro UV-VIS a 290 nm.

$$PAL U g^{-1} PT = \frac{Y * V * D \left(\frac{1}{tr}\right)}{\frac{M}{PT}}$$

Donde: Y=Concentración obtenida en la ecuación de la recta (μmol L⁻¹). V=Volumen (L). D=Factor de dilución. tr=Tiempo de reacción. M=Masa utilizada para la extracción (g). PT=Contenido de proteínas (mg g⁻¹).

Capacidad antioxidante

Se determinó capacidad antioxidante por DPPH (1,1-difenil-2picrilhidrazil) y ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico).

DPPH. Para hacer la determinación por DPPH se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams *et al.*, (1995), se colocaron en un pocillo de microplaca 6 μL de EE y 234 μL de DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) a 0.1 mM, se agitó cuidadosamente y en oscuridad se incubó por 30 minutos, enseguida se determinó la absorbancia del lector de Microplacas (Modelo ELx808™) a 540 nm. Se colocaron 240 μL de buffer de fosfatos sobre el pocillo para usarlo como blanco.

ABTS: se realizó por el método espectrofotométrico de Re *et al.*, (1999) y Kuskoski *et al.*, (2004) estos métodos se basan en la decoloración del catión radical ABTS, el cual se obtuvo mezclando en partes iguales ABTS a 7 mM y persulfato potásico (K₂S₂O₈) a 2.45 mM, la mezcla se dejó reposar en oscuridad, a temperatura ambiente (25 °C) durante 16 horas antes de ser utilizada. En un tubo de 2 mL se agregaron 20 μL de EE, 980 μL del radical ABTS (con

absorbancia de 0.7 ± 0.01 a 754 nm, se realizaron diluciones con etanol al 20% para ajustar la absorbancia), se agitó en Vortex durante 5 segundos y se dejó reposar durante 7 min en oscuridad. Se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 754 nm con una celdilla de cuarzo, como blanco se usó buffer de fosfatos pH 7. Las absorbancias fueron interpoladas en las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración realizada con TROLOX (6hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) ($C_{14}H_{18}O_4$) y ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) con estándares a una concentración de 0.1 a 5 mM y 0.01 a 0.5 mg mL^{-1} respectivamente, ambos reactivos se diluyeron en buffer de fosfatos pH 7.

Contenido mineral de fruto

Para el contenido mineral se realizó una muestra con un gramo de tejido seco y (HNO_3). Posteriormente fue cuantificado con un espectrofotómetro de inducción de plasma (ICP, Thermo Jarrel Ash Irish Advantage 14034000). Los elementos analizados fueron Ca, K, Mg, Na, P, S, Se, Cu, Mn, Mo, Ni y Zn.

Análisis estadístico

Para las variables agronómicas el diseño que se estableció fue bloques completos al azar distribuido en tres bloques. Etapa I (siete tratamientos) y etapa II (seis tratamientos).

Se utilizó un diseño completamente al azar utilizando seis replicas por cada tratamiento para las variables de calidad de fruto, pigmentos fotosintéticos, antioxidantes no enzimáticos, enzimas antioxidantes, actividad antioxidante y minerales, cada replica fue recolectada de plantas diferentes. Se realizó un análisis de varianza y prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) en el software estadístico Infostat 2019.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa I

En la Tabla 1 se observa que ningún tratamiento afecta de manera significativa la planta. No obstante, la variable altura de planta en el tratamiento NPsSe 10 mg L⁻¹ provocó una disminución del 5.05% y S.S. 1 mg L⁻¹ aumentó 4.38%, en el resto de las variables no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

Las NPs facilitan el suministro de elementos nutritivos necesarios para un mejor crecimiento y alta productividad en las plantas (Singh *et al.*, 2015). En este caso, las dosis de 10 mg L⁻¹ NPsSe redujo el crecimiento de las plantas, esto se atribuye a la relación entre el tipo de NPs y las planta que establece la importancia en el crecimiento de las raíces al inhibirse de manera progresiva a las dosis o tipo de moléculas (Lin y Xing, 2007). Esta dosis de NPs no influyó en la productividad de frutos, sin embargo, los resultados muestran que el Se cómo Nanopartícula (Np) causó un ligero estrés en la planta.

Se han utilizado diferentes tipos de NPs para mejorar el crecimiento y desarrollo en los cultivos. Las NPs de óxido de Zn, Cu, Fe, FeO y ZnO mostraron efectos positivos en el crecimiento (Dhoke *et al.*, 2013). Las NPs de Cu (10-50 ppm) aplicadas al suelo aumentan el crecimiento en plantas de trigo (Hafeez *et al.*, 2015).

Juárez-Maldonado *et al.*, (2016), emplearon NPs de Cu en sustrato y observaron un incremento en la altura de plantas de tomate, mostrando que en dosis pequeñas y a escala nanométrica se estimula el crecimiento de los cultivos.

En este caso, las dosis de NPsSe no influyeron en la producción de frutos, sin embargo, la dosis de 10 mg L⁻¹ de NPsSe redujo el crecimiento de las plantas, esto se atribuye a la relación entre las NPs y las plantas que establece la importancia en el crecimiento de las raíces que se inhiben de manera progresiva a las dosis o tipo de moléculas aplicadas (Lin y Xing, 2007).

El efecto en el desarrollo de la planta de la forma iónica y la forma nano son influenciadas por las dosis aplicadas. Ramos *et al.*, (2010) menciona que a niveles bajos el S.S. actúa como antioxidante y mejora el crecimiento, pero a niveles altos lo reduce.

Saffaryazdi *et al.*, (2012) reportaron efectos benéficos en el crecimiento de plantas de espinaca en un sistema hidropónico con nutrición modificada agregando Se como S.S. Hawrylak-Nowak, (2013) reportó que una aplicación de 15 μM Se como S.S. causó una disminución en la biomasa de lechuga.

Tabla 1. Crecimiento, desarrollo y productividad de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	NH	Altura (cm)	DT (mm)	NF	PTF (kg)	LF (cm)	DF (mm)
Control	41.7 ab	306.1 b	7.8 a	15.2 a	5.6 a	23.2 a	50.5 ab
NPsSe 1 mg L ⁻¹	42.0 a	299.9 bc	8.1 a	14.3 a	5.5 a	23.4 a	51.1 ab
NPsSe 10 mg L ⁻¹	42.2 a	290.6 c	8.0 a	14.3 a	5.5 a	24.1 a	50.7 ab
NPsSe 20 mg L ⁻¹	41.3 ab	300.6 bc	8.2 a	15.0 a	5.6 a	23.3 a	50.9 ab
SS 1 mg L ⁻¹	40.7 b	319.5 a	7.9 a	15.1 a	5.7 a	23.2 a	50.3 b
SS 10 mg L ⁻¹	41.9 a	303.2 b	8.2 a	14.7 a	5.5 a	23.3 a	50.6 ab
SS 20 mg L ⁻¹	41.7 ab	299.9 bc	8.0 a	14.6 a	5.3 a	23.4 a	51.3 a
CV (%)	4.5	5.6	8.4	15.4	14.9	7.1	2.4

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. NH: hojas por planta; Altura: Altura de planta (cm); DT: Diámetro de tallo (mm). NF: Numero de frutos por planta; PTF: peso total de frutos por planta; LF: largo promedio de frutos; DF: diámetro promedio de frutos. CV: Coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

La Tabla 2 muestra las variables de calidad de frutos de pepino, el tratamiento de NPsSe 10 mg L⁻¹ estimula el contenido de SST y la AT en el fruto, sin embargo, disminuye el ORP y pH. La aplicación de S.S. no produce cambios significativos en la firmeza, pH, CE y SST, en cuanto al tratamiento S.S. 10 mg L⁻¹ incrementa la AT y S.S. 20 mg L⁻¹ aumenta el ORP.

En cuanto a la firmeza del fruto, la aplicación de 1 mg L⁻¹ NPsSe incrementa 27.11% esta variable, los tratamientos restantes fueron estadísticamente similares al control.

La aplicación de 10 mg L⁻¹ NPsSe aumentó el contenido de SST y redujo el pH en el fruto. En cuanto a los tratamientos restantes no hubo diferencias significativas respecto al control en estas variables.

El ORP disminuyó por aplicación de NPsSe a 1 mg L⁻¹ (18.37%), NPsSe 20 mg L⁻¹ (12.75%) y S.S. 20 mg L⁻¹ (14.56%), lo que significa que hubo una mejora en el fruto, ya que se busca un ORP menor. Lo contrario ocurrió en NPsSe 10 mg L⁻¹ el cual aumentó 13.15% (Tabla 2).

La AT incrementó cuando se aplicó NPsSe 1 mg L⁻¹ (54.95%), NPsSe 10 mg L⁻¹ y S.S. 10 mg L⁻¹ (31.04% en ambos).

El efecto positivo del Se en frutas y vegetales enriquecidos con este elemento es debido a un estado antioxidante mejorado y a una biosíntesis reducida de etileno que disminuye potencialmente la senescencia en los frutos (Puccinelli *et al.*, 2017). Así, el Se actúa favorablemente en la calidad, mejorando sus características químicas. Los resultados muestran que la dosis de 10 mg L⁻¹ NPsSe mejoró de manera significativa el ORP, AT, °Brix y pH en el fruto de pepino. Esto concuerda lo reportado por Nawaz *et al.*, (2016) que afirman que el Se ejerce un efecto directo en la calidad, esto se asocia con su regulación en los procesos bioquímicos.

Tabla 2. Calidad de fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	Firmeza (kg cm ⁻²)	pH	CE	SST (°Brix)	ORP (mV)	AT (% A. Cit.)
Control	8.6 b	5.5 ab	2.8 a	3.0 b	166.0 bc	7.5 c
NPsSe 1 mg L ⁻¹	10.9 a	5.5 bc	2.7 a	3.0 b	135.5 a	9.9 ab
NPsSe 10 mg L ⁻¹	8.7 b	5.4 c	2.7 a	3.3 a	187.8 d	11.7 a
NPsSe 20 mg L ⁻¹	9.8 ab	5.5 b	2.9 a	3.0 b	144.8 a	8.8 bc
S.S. 1 mg L ⁻¹	8.1 b	5.5 ab	2.7 a	3.0 b	159.6 b	9.0 bc
S.S. 10 mg L ⁻¹	8.2 b	5.6 a	2.9 a	3.0 b	177.1 cd	9.9 ab
S.S. 20 mg L ⁻¹	8.2 b	5.5 ab	3.0 a	3.0 b	141.8 a	8.8 bc
CV (%)	16.4	0.93	11.3	6.4	7.02	20.02

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenio de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. Firmeza: Firmeza de fruto (Kg cm⁻²); pH: potencial de hidrogeno; C.E: conductividad eléctrica (mS m⁻¹); ORP: potencial oxido-reducción (mV); AT: acidez titulable (% de ácido cítrico); SST: sólidos solubles totales (°Brix). CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05).

En la Tabla 3 se presentan los tratamientos con aplicación de Se independientemente de la forma (NPsSe o S.S.) presentaron una disminución en el contenido de clorofilas en el fruto. El contenido de clorofila a y clorofila total se reduce conforme aumenta la concentración de NPsSe, mientras que en el contenido de clorofila b tiene un efecto estimulador directamente relacionado con las dosis de S.S.

El contenido de clorofilas a, b y total en el fruto disminuyó con S.S. 1 mg L⁻¹ (49.06%, 64.04% y 53.28%) y en S.S. 10 mg L⁻¹ (56.06%, 46.42% y 53.35%).

En comparación con estos resultados, la aplicación de Se como NPs a las mismas dosis disminuye en menor medida el contenido de clorofila a y total en el fruto con respecto al control: NPsSe 1 mg L⁻¹ (22.40% y 30.61%) y NPsSe 10 mg L⁻¹ (39.12% y 36.61%).

Los resultados muestran que el contenido de clorofilas en el fruto disminuyó debido a la aplicación de Se en la planta, estos resultados contrastan a lo reportado por Alyemeni *et al.*, (2017) donde la aplicación de Se (10 µM) aumenta el contenido de clorofila y mitiga los efectos adversos por toxicidad sobre plantas de tomate, esto puede estar influido por la dosis de aplicación. Mosa *et al.*, (2018) obtuvieron resultados que presentaron niveles reducidos de los pigmentos fotosintéticos (clorofila a y b) en plantas de pepino debido a la aplicación de nanopartículas de cobre a dosis de 50, 100 y 200 mg L⁻¹ mostrando una relación dependiente de la dosis de NPs utilizada. Contrario a ello, al emplear Se en forma iónica Saffaryazdi *et al.*, (2012) observaron que la aplicación de 1 mg L⁻¹ de S.S. aumentó el contenido de clorofilas a y b un 87% y 165% respectivamente y a niveles más altos ejerce efectos tóxicos en espinacas (*Spinacia oleracea* L.).

El efecto tóxico se presentó a niveles altos en el experimento, las dosis utilizadas mostraron una respuesta negativa al reducir el contenido de clorofilas en el fruto debido a la toxicidad del Se ejercida por las dosis utilizadas.

Tabla 3. Pigmentos fotosintéticos en frutos de pepino.

Tratamiento	Clorofila a (mg 100g ⁻¹ PS)	Clorofila b (mg 100g ⁻¹ PS)	Clorofila total (mg 100g ⁻¹ PS)
Control	21.42 a	8.40 a	29.82 a
NPsSe 1 mg L ⁻¹	16.62 ab	4.07 c	20.69 bc
NPsSe 10 mg L ⁻¹	13.04 bc	5.85 abc	18.90 bc
NPsSe 20 mg L ⁻¹	12.42 bc	4.79 bc	17.20 bc
S.S. 1 mg L ⁻¹	10.91 bc	3.02 c	13.93 c
S.S. 10 mg L ⁻¹	9.41 c	4.50 c	13.91 c
S.S. 20 mg L ⁻¹	15.53 ab	8.11 ab	23.64 ab
CV (%)	35.9	54.9	36.9

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; PS: peso seco. CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

En la Tabla 4 se presentan los resultados donde los tratamientos con S.S. en las dosis de 10 mg L⁻¹ y 20 mg L⁻¹ reducen el contenido de vitamina C. S.S. 10 mg L⁻¹ aumentó los fenoles en el fruto. En cuanto a la aplicación de NPsSe no mostraron diferencias estadísticas en las variables de vitamina C, flavonoides, fenoles y licopeno, en cuanto a GSH la dosis de 10 mg L⁻¹ redujo el contenido de este antioxidante.

El contenido de vitamina C disminuye debido a la aplicación de S.S. 10 mg L⁻¹ y S.S. 20 mg L⁻¹ (37.5% y 33.42%).

El tratamiento de S.S. 10 mg L⁻¹ aumentó la cantidad de fenoles 22.22% en el fruto, en cuanto a la aplicación de NPsSe no influyó en la cantidad de estos.

La aplicación de NPsSe 1 mg L⁻¹ disminuye el contenido de GSH en el fruto 26.53%, en cuanto a los tratamientos restantes con Se como NPs y S.S. no ejercieron efectos en este antioxidante (Tabla 4).

Hu *et al.*, (2003) reporta que la aplicación de Se (60 mg L⁻¹) mejora el contenido de vitamina C en frutos de pepino. Lo anterior difiere con lo obtenido, esto puede ser por la especie utilizada ya que las dosis son menores (10 y 20 mg L⁻¹) e influyen de manera negativa. Esto concuerda con Terry *et al.*, (2000) donde observaron que las plantas varían considerablemente en su respuesta al Se.

Puccinelli *et al.*, (2017) mencionan que el Se puede afectar la calidad de frutas y verduras.

El contenido de antioxidantes en frutas y verduras es importante en la dieta humana (Chun *et al.*, 2005). La vitamina C es considerada esencial requerida como un cofactor para muchas enzimas (Jacob y Sotoudeh, 2002). El consumo de alimentos con este compuesto disminuye la posibilidad de enfermedades crónicas en humanos (Valero *et al.*, 2018). En ello radica la importancia de la bioestimulación para mejorar la calidad de frutos.

El aumento en el contenido de fenoles es justificado por la acción positiva del Se como antioxidante y se le atribuye el efecto directo en la generación de antioxidantes como fenoles. Como menciona Chomchan *et al.*, (2017) el Se a 10 mg L^{-1} desencadena la síntesis de compuestos fenólicos, importantes en las actividades antioxidantes.

El aumento en la síntesis de flavonoides y fenoles en condiciones salinas puede reflejar algún tipo de defensa contra las condiciones de estrés oxidativo.

Las frutas maduras de pepino contienen altas cantidades de fenoles y flavonoides y consecuente a ello presentan una buena actividad antioxidante al eliminar de manera efectiva los radicales libres en las frutas verdes y tienen un potencial de prevención del estrés oxidativo (Sudha *et al.*, 2012).

Tabla 4. Antioxidantes no enzimáticos en fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	Vit C	Flav	Fen	Licop	GSH
Control	10.8 a	54.7 a	10.3 bc	3.8 ab	6.5 ab
NPsSe 1 mg L ⁻¹	8.3 ab	57.3 a	9.5 c	2.3 b	4.7 c
NPsSe 10 mg L ⁻¹	10.1 a	52.7 a	11.2 abc	2.9 b	5.5 bc
NPsSe 20 mg L ⁻¹	8.5 ab	52.9 a	10.2 bc	2.6 b	6.5 ab
S.S. 1 mg L ⁻¹	8.6 ab	55.6 a	11.5 ab	2.2 b	6.3 ab
S.S. 10 mg L ⁻¹	6.7 b	55.8 a	12.6 a	2.6 b	6.6 a
S.S. 20 mg L ⁻¹	7.1 b	57.3 a	12.1 ab	4.7 a	6.3 ab
CV (%)	28.2	12.7	15.0	45.2	15.0

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. Vit C: Vitamina C (mg 100 g⁻¹ de peso fresco); Flav: Flavonoides (mg 100 g⁻¹ de peso seco); Fen: Fenoles (mg Eq ácido gálico/100 g⁻¹ de peso seco); Licop: Licopeno (mg g⁻¹ de peso fresco); GSH: Glutatión reducido (mmol/100g PS); CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05).

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la actividad enzimática GPX y SOD en los frutos se observaron diferencias significativas por las concentraciones de Se en comparación al control. La actividad GPX es disminuida por la aplicación de Se y hubo una relación directa entre las dosis de aplicación como S.S. y NPs, en la que conforme a la disminución de concentración también la actividad de esta enzima se redujo. Mientras que en SOD se observó que la aplicación de Se reduce la actividad de esta enzima conforme al incremento en la dosis de S.S. La aplicación de NPsSe a 1, 10 y 20 mg L⁻¹ reducen la actividad enzimática de GPX en el fruto 100%, 84.41% y 75.28% respectivamente.

La actividad de SOD disminuye mediante la aplicación de S.S. a 1, 10 y 20 mg L⁻¹ (50.74%, 84.10% y 100%).

Chen *et al.*, (2008) mencionan que las enzimas antioxidantes son de gran importancia en la protección de la célula ante un estrés por Se, por lo que las dosis de este elemento pueden resultar tóxicas a las plantas. Altas dosis de Se inducen toxicidad generando un tipo de estrés oxidativo en las células (Gupta y

Gupta, 2017). Con ello también el aumento en la actividad de algunas enzimas en mayor proporción.

Como se pudo observar en los resultados, hay una relación entre la concentración de NPsSe y el aumento en la actividad de SOD. Esto demuestra que hay una influencia directa del Se en la actividad de esta, dando respuesta a lo ocurrido. Lo anterior se contrapone a lo reportado por Feng y Wei, (2012) que mencionan que la actividad de SOD es incrementada al adicionar 20 mg L⁻¹ de S.S. en helecho de freno chino (*Pteris vittata* L.). Lo anterior puede deberse al tipo de especie que se utilizó ya que esta es considerada como hiperacumuladora de Se mientras que el pepino no.

En cuanto a la enzima GPX funciona como antioxidante al reducir peróxidos, como el peróxido de hidrogeno (H₂O₂), Xue *et al.*, (2001) asoció la capacidad antioxidante del Se en plantas de lechuga por el aumento de GPX. Rios *et al.*, (2009) obtuvieron resultados positivos en los que se induce tolerancia al estrés en dosis bajas mejorando el sistema antioxidante mediante la aplicación de S.S., lo cual, aumentó las enzimas que eliminan el H₂O₂, principalmente APX, CAT y GPX. Lo cual corresponde con lo ocurrido en el fruto de pepino y la aplicación tanto de NPsSe como de S.S. donde este último tuvo un mayor efecto. Esto puede deberse a la funcionalidad que la planta designa al Se por el tipo de moléculas, es decir, el Se pudo ser utilizado en otros procesos químicos.

La dependencia de Se en la actividad enzimática de GPX se relaciona especialmente con la forma química de Se aplicada en tejidos vegetales y hay una correlación positiva significativa con la concentración de Se aplicada (Cartes *et al.*, 2005).

Tabla 5. Actividad enzimática en fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	APX	GPX	CAT	SOD	PAL
Control	22.7 a	2.6 a	13.1 a	12.7 a	1.7 ab
NPsSe 1 mg L ⁻¹	20.0 a	0 d	10.6 a	9.6 abc	1.6 ab
NPsSe 10 mg L ⁻¹	18.7 a	0.41 cd	16.5 a	9.2 bc	1.4 b
NPsSe 20 mg L ⁻¹	17.3 a	0.65 c	9.9 a	10.9 ab	1.5 ab
S.S. 1 mg L ⁻¹	16.5 a	0.89 c	12.4 a	6.2 c	1.6 ab
S.S. 10 mg L ⁻¹	17.4 a	0.96 c	18.2 a	2.0 d	1.6 ab
S.S. 20 mg L ⁻¹	20.8 a	1.8 b	13.7 a	0 d	1.8 a
CV (%)	28.1	46.9	56.1	40.0	15.3

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; APX: ascorbato peroxidasa; GPX: glutatión peroxidasa; CAT: actividad enzimática de catalasa. La actividad es presentada por U g⁻¹ de Proteína total (U g⁻¹ PT); SOD: superóxido dismutasa (U ml⁻¹); PAL: fenilalanina amonio liasa (U 100 g⁻¹ PT). CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

En la Tabla 6 se observa que la capacidad antioxidante ABTS de los compuestos hidrofílicos en el fruto aumentó un 33.18% con la aspersion de S.S. en dosis de 10 mg L⁻¹. En cuanto, a esta misma dosis la aspersion con NPsSe no provocó diferencias significativas con respecto al control en esta variable. En los compuestos lipofílicos la capacidad antioxidante ABTS aumentó hasta un 25.75% usando la dosis de 20 mg L⁻¹ NPsSe; y en S.S. a 1 mg L⁻¹ un 30.3%.

En las dosis (10 y 20 mg L⁻¹) de Se aplicadas en forma iónica la capacidad antioxidante DPPH en los compuestos hidrofílicos es reducida en un 81.41 y 89.73% respectivamente. En cambio, la aplicación en forma de NPs no tuvo diferencias estadísticas significativas.

Los compuestos lipofílicos determinados por DPPH disminuyen en el tratamiento de S.S. a 10 mg L⁻¹ un 3.13% con respecto al control. Mientras que con la aplicación de NPs (10 mg L⁻¹) hubo un comportamiento contrario aumentando un 3.9%.

Los resultados de la capacidad antioxidante total por ABTS aumentaron conforme se incrementó las dosis de aplicación de NPsSe y en forma iónica. El aumento

en los tratamientos S.S. y NPsSe (20 mg L⁻¹) fue de 32.08% y 15.07% respectivamente.

La capacidad antioxidante total determinada por DPPH contrasta con lo obtenido por ABTS, este último mostró mayor actividad antioxidante que el primero.

Las NPs tienen importantes propiedades que ayudan en la eliminación de ROS (Khan *et al.*, 2015). Dauthal y Mukhopadhyay, (2013) reportaron que la capacidad antioxidante en rábano (*Raphanus sativus* L.), expresado como ABTS y DPPH, aumentó 32% y 85%, respectivamente, en las plantas tratadas con 250 mg kg⁻¹ de NPs de CeO₂ vía suelo. La aplicación de nanopartículas de Cu en hidrogeles de quitosano-PVA aumentó el contenido de antioxidantes evaluados por capacidad antioxidante ABTS y DPPH (Pinedo-Guerrero *et al.*, 2017). En este caso las NPsSe tuvieron un mayor efecto en la capacidad antioxidante de compuestos lipofílicos en las dosis de 10 y 20 mg L⁻¹, esto puede deberse a la afinidad de las NPsSe por este tipo de compuestos.

Los resultados de la capacidad antioxidante obtenidos por DPPH y ABTS son contrastantes. Badanai *et al.*, (2015) coinciden con esto, indicando que se debe a los tiempos de reacción y a las diferencias en las moléculas o conjunto de ROS que reaccionan unos con otros en relación con el tiempo. Además, DPPH puede proporcionar una ventaja si los antioxidantes que se prueban son más solubles en disolventes orgánicos (Ozgen *et al.*, 2006).

La actividad antioxidante en frutos depende de la cantidad de diversos compuestos bioactivos. Estos actúan como fuertes eliminadores de radicales libres, donantes de hidrógeno y quelantes de iones metálicos (Sudha *et al.*, 2012). El Se estimula la generación de este tipo de compuestos y por ende actividades antioxidantes (Chomchan *et al.*, 2017). Esto coincide con los resultados obtenidos en el presente experimento donde la aplicación de Se como S.S. aumenta en mayor medida la capacidad antioxidante, esto puede deberse a la forma del Se, debido a que puede tener un mayor efecto en forma iónica en la generación de compuestos antioxidantes principalmente fenoles.

Tabla 6. Capacidad antioxidante ABTS y DPPH en fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	ABTSH	ABTSL	DPPHH	DPPHL	ABTST	DPPHT
Control	6.5 c	0.66 b	30.1 a	66.6 a	7.2 d	96.8 a
NPsSe 1 mg L ⁻¹	6.7 c	0.75 ab	23.0 ab	66.3 a	7.5 cd	89.4 a
NPsSe 10 mg L ⁻¹	7.0 c	0.82 a	19.4 abc	67.2 a	7.8 cd	86.6 ab
NPsSe 20 mg L ⁻¹	7.4 bc	0.83 a	22.0 ab	67.2 a	8.3 bc	84.5 ab
S.S. 1 mg L ⁻¹	8.3 ab	0.86 a	31.0 a	65.7 ab	9.2 ab	96.7 a
S.S. 10 mg L ⁻¹	8.7 a	0.76 ab	5.6 bc	64.5 b	9.5 a	66.2 b
S.S. 20 mg L ⁻¹	8.7 a	0.84 a	3.1 c	66.9 a	9.5 a	32.5 c
CV (%)	11.6	14.3	78.3	2.0	10.7	245.2

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. ABTSH: capacidad antioxidante ABTS de compuestos hidrofílicos. ABTSL: capacidad antioxidante ABTS de compuestos lipofílicos; ABTST: capacidad antioxidante ABTS total; DPPHH: capacidad antioxidante DPPH de compuestos hidrofílicos; DPPHL: actividad antioxidante DPPH de compuestos lipofílicos; DPPHT: capacidad antioxidante DPPH total. La capacidad antioxidante es expresada en mg de Ácido Ascórbico g⁻¹ de peso seco. CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

En la Tabla 7 se presentan los resultados del contenido de macroelementos donde el tratamiento NPsSe 10 mg L⁻¹ aumentó el contenido de K, P y S. El K aumentó por la aplicación de NPsSe (10 y 20 mg L⁻¹) y S.S. (1,10 y 20 mg L⁻¹). Por otro lado, la aplicación de 1 mg L⁻¹ de NPsSe disminuyó la cantidad de Ca (14%) en el fruto.

La aplicación de 10 mg L⁻¹ de NPsSe aumentó el contenido de K (23.76%), P (19.58%) y S (25.08%) en el fruto. (Tabla 7).

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control en el contenido de sodio en el fruto por lo cual los tratamientos aplicados no alteraron el contenido.

Rizwan *et al.*, (2016) mencionan que los mecanismos de toxicidad en la planta incluyen la alteración en la absorción de nutrientes minerales. Por lo cual el contenido de diferentes minerales en el fruto puede variar a consecuencia de las dosis de aplicación.

Tabla 7. Macroelementos contenidos en fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	Ca	K	Mg	Na	P	S
Control	5.3 a	30.4 b	2.7 ab	1.6 a	12.1 b	3.1 b
NPsSe 1 mg L ⁻¹	4.6 b	29.9 b	2.5 b	1.4 a	10.7 b	3.2 b
NPsSe 10 mg L ⁻¹	5.2 ab	37.6 a	2.7 ab	1.5 a	14.4 a	3.8 a
NPsSe 20 mg L ⁻¹	4.7 ab	39.1 a	2.7 a	1.5 a	12.1 b	3.4 b
S.S. 1 mg L ⁻¹	4.9 ab	39.6 a	2.9 a	1.4 a	10.6 b	3.2 b
S.S. 10 mg L ⁻¹	4.6 ab	40.4 a	2.9 a	1.3 a	11.0 b	3.2 b
S.S. 20 mg L ⁻¹	4.6 ab	39.5 a	2.7 ab	1.4 a	10.4 b	3.2 b
CV (%)	12.9	6.7	9.0	19.6	15.0	9.4

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenito de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. El contenido de macronutrientes es expresado en g kg⁻¹. CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

En la Tabla 8 se presentan los resultados del contenido de microelementos donde el S.S. mostró un comportamiento positivo a la acumulación de Se en el fruto de pepino ya que aumentó con la aplicación de la dosis de 10 y 20 mg L⁻¹ superan al control (166.26 y 144.3%) (Tabla 8).

El tratamiento con 10 mg L⁻¹ de NPsSe aumenta 42.85% el contenido de Cu, 28.82% de Mn, 61.3% de Ni, mientras que la concentración de Se disminuye un 13.82%. La acumulación de Mo disminuye mediante la aplicación de NPsSe 1 mg L⁻¹ (54.64%).

La aplicación de Se (selenato) disminuye el contenido de Cu y Mn en la raíz (Ahmad *et al.*, 2016). Esto contrasta con lo obtenido en el presente experimento donde 10 mg L⁻¹ de NPsSe promueven la acumulación de estos elementos en las hojas. Lo cual puede deberse a que la aplicación se llevó a cabo por aspersión por lo que las NPs provocaron un efecto en la movilidad de estos elementos en el área foliar. El destino de las NPs y su efecto están mediados por la capacidad de la planta para transportarlas por medio de los tejidos y su asimilación. Las características de las destacan en las interacciones químicas que puede haber

dentro de ellas con las NPs al introducirse por la raíz, donde el xilema juega un papel importante para el transporte determinado por su tamaño configurando su velocidad y transporte, esto definirá el destino y reserva de las mismas (De la Rosa *et al.*, 2016).

Tabla 8. Microelementos contenidos en fruto de pepino con aplicación de selenio.

Tratamiento	Se	Cu	Mn	Mo	Ni	Zn
Control	2.4 c	7.7 bc	35.6 b	2.8 a	43.5 b	59.9 ab
NPsSe 1 mg L ⁻¹	2.9 bc	8.6 bc	32.8 b	1.2 b	32.6 bc	54.7 b
NPsSe 10 mg L ⁻¹	2.1 c	11.0 a	43.3 a	2.2 ab	70.2 a	70.7 a
NPsSe 20 mg L ⁻¹	2.2 c	8.9 b	38.8 ab	2.6 ab	44.5 b	56.2 b
S.S. 1 mg L ⁻¹	3.6 abc	7.2 c	34.4 b	1.2 ab	32.6 bc	51.6 b
S.S. 10 mg L ⁻¹	6.5 a	8.6 bc	36.7 b	2.2 ab	50.2 b	56.3 b
S.S. 20 mg L ⁻¹	6.0 ab	7.6 bc	33.1 b	2.6 ab	17.2 c	48.5 b
CV (%)	71.7	15.7	14.4	54.5	39.7	18.9

Control: Plantas con aplicación de agua destilada; NPsSe: Plantas con aplicación de nanopartículas de selenio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹; S.S.: Plantas con aplicación de selenio de sodio a 1, 10 y 20 mg L⁻¹. El contenido de micronutrientes es expresado en mg kg⁻¹. CV: coeficiente de variación. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$).

Etapa II

Los resultados en los tratamientos con NPsSe sin estrés muestran diferencias significativas en peso de frutos por planta, sin tener efecto en las demás variables agronómicas. En tanto, el estrés por salinidad las redujo de manera significativa. Se observó un ligero estrés por la aplicación de NPs a plantas con estrés al disminuir el diámetro de tallo (15 a 17%) comparados con el control. De igual manera en el tratamiento Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ la altura disminuyó 46.17%, el número de hojas por planta un 43.18% y el NF por planta 34.78% (Tabla 9). La dosis de NPsSe 20 mg L⁻¹ mejoró la producción de frutos (NF) por el estrés por salinidad al disminuir un 17.66% mientras que el tratamiento con sal sin aplicación de NPs un 32.56% con respecto al control.

El peso de frutos por planta fue estimulado con la aplicación de NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹ el aumento fue 8.0%. Mientras que en plantas con estrés por salinidad en combinación con NPsSe las diferencias fueron menores.

La aplicación de NPsSe provoca efectos estimulatorios en el rendimiento, sin embargo, esto no se observó en el crecimiento de la planta. Lo anterior difiere con Hu *et al.*, (2003) donde el Se aplicado de forma exógena tuvo un efecto fisiológico positivo en el crecimiento de la planta.

La salinidad reduce el crecimiento de la planta significativamente. Pitman y Läuchli, (2002) mencionan que la salinidad es la causa de grandes pérdidas en la producción agrícola complejas de evaluar, pero su estimación es importante ya que tiende a incrementar con el tiempo. Esto ocurre debido a la deficiencia de la planta para absorber agua y nutrientes por lo que disminuye la producción de energía para su desarrollo.

También, los suelos salinos agrícolas cada vez son más, pues la superficie afectada ha aumentado, provocando un gran impacto en el medio ambiente de forma antropogénica y no únicamente natural (Reigosa *et al.*, 2004). Trajkova y Papadantonakis, (2006) observaron que el rendimiento de la fruta en el cultivo de pepino disminuyó en proporción al aumento de la salinidad por NaCl (3 y 5 dS m⁻¹).

El rendimiento y calidad en los frutos para el mercado puede ser mejorada mediante el uso bioestimulantes y antioxidantes pudiendo ser estos, elementos. La aplicación de Se tiene efectos positivos en las plantas al ser benéfico y puede acentuar la resistencia a tipos de estrés abiótico como la salinidad (Pilon-Smits *et al.*, 2009). La aplicación de NPs de óxido de cerio actúa positivamente en el crecimiento y producción (Wang *et al.*, 2012). Demostrando así, que algunas NPs pueden actuar como bioestimulantes.

Hawrylak-Nowak, (2009) concluyen que la tolerancia a la salinidad es beneficiada en las plántulas protegiendo la membrana de la célula contra la peroxidación lipídica, demostrando el efecto antioxidante del Se en bajas concentraciones (5 y 10 µM) y promoviendo el crecimiento bajo condiciones salinas. Se ha confirmado que ejerce un efecto positivo en el crecimiento de cultivos y tolerancia al estrés a

bajas concentraciones, en cambio, en altas concentraciones, actúa como prooxidante y conduce a una reducción drástica en el rendimiento (Hasanuzzamán, *et al.*, 2010).

Xue *et al.*, (2001) realizaron un estudio donde aplicaron Se como ácido selénico (H_2SeO_4) en dosis 0.1 y 1.0 mg kg⁻¹ de suelo y los resultados mostraron que la dosis baja tuvo un efecto estimulante en el crecimiento en plantas senescentes de lechuga, mientras que la dosis alta era tóxica y redujo la producción.

La relación entre la dosis utilizada y la forma del Se aplicada concluye en el efecto que tendrá en la producción, entre otros factores. En el presente experimento las dosis de Se utilizadas en plantas sin estrés por salinidad favorecieron el rendimiento, pero con estrés no tuvieron un efecto significativo por lo que las dosis pudieron influir en el resultado.

Tabla 9. Variables de crecimiento y productividad.

Tratamiento	DT (mm)	AP (cm)	NH	NF	PF (kg)
Control	10.1 a	199.7 a	23.5 a	10.8 a	5.0 b
NPsSe 20 mg L ⁻¹	10.2 a	195.3 a	23.8 a	11.7 a	5.4 a
NPsSe 50 mg L ⁻¹	10.5 a	200.3 a	24.4 a	11.5 a	5.4 a
Sal	8.7 b	117.5 bc	17.9 b	7.2 c	1.7 cd
Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	8.6 b	122.4 b	18.6 b	8.9 b	1.9 c
Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	8.4 b	107.5 c	13.3 c	7.0 c	1.6 d
CV (%)	7.9	10.6	9.8	16.7	13.0

Control: aplicación de agua destilada, NPsSe: aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Sal: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM). Sal+NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM) con aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. DT: Diámetro de tallo. AP: Altura de planta. NH: Número de hojas por planta. NF: Número de frutos por planta. PF: Peso de frutos por planta. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD ($P \leq 0.05$). CV: coeficiente de variación.

En la Tabla 10 se presenta los resultados sobre la calidad de frutos donde la dosis de NPsSe 50 mg L⁻¹ aumentó el pH en el fruto y mejoró de forma significativa el ORP en plantas con aplicación de NaCl (salinidad). La aplicación de NPsSe incrementó la AT (porcentaje de ácido cítrico). En plantas con estrés

por NaCl el contenido de SST en los frutos tuvo diferencias estadísticas en comparación con el control.

Las NPsSe 50 mg L⁻¹ influyeron directamente en la CE ya que los tratamientos a esta dosis con y sin estrés la disminuyen 24.46% y 17.20% respectivamente.

El pH presentó un incremento directamente proporcional a las dosis de NPs y estrés por salinidad, el tratamiento Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ aumentó 4.82%.

El ORP en el fruto disminuye por la aplicación de NPsSe en plantas con salinidad, el tratamiento Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ fue el que presentó la mayor disminución 18.39%.

Los SST aumentaron en los tratamientos con salinidad debido a la aplicación de NaCl (salinidad), además, en los mismos se observó un efecto estimulador en respuesta a la aplicación de NPsSe a dosis de 20 y 50 mg L⁻¹ (26.84% y 31.87%) con respecto al control.

Los tratamientos con NPsSe mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al control en la AT, principalmente NPsSe 50 mg L⁻¹ que la incrementó 83.33% obteniendo mayor contenido de ácido cítrico en el fruto.

El contenido de azúcares se acumula durante el desarrollo, característica de los frutos climatéricos contrario a los no climatéricos donde los SST aumentan conforme la madurez en postcosecha (Azcon y Talon, 2008), el rango de valores obtenidos de los tratamientos es de 2.4 a 4 °Brix, rangos bajos que comúnmente se presentan en este tipo de frutos. El contenido de SST incrementa con forma al aumentó de conductividad eléctrica en el suelo (Casierra-Posada y Riaño, 2006). Kepenek y Koyuncu, (2002) difieren de ello, mencionan que la AT y los SST son reducidos, pero esto dependerá del cultivo que se maneje debido a que cada uno tiene diferentes capacidades para tolerar la salinidad.

El enriquecimiento con Se a frutas y vegetales mejora su estado antioxidante y la reduce la biosíntesis de etileno que por lo tanto disminuye potencialmente la senescencia de los frutos (Puccinelli *et al.*, 2017). De esta manera, el Se actúa positivamente en la calidad, mejorando sus características químicas. Como se puede ver en los resultados la dosis del tratamiento a 50 mg L⁻¹ NPsSe en plantas con estrés por salinidad aumentó el contenido de SST, además disminuye el ORP

y pH proporcionando un fruto de calidad y con mayor vida de anaquel. Eso puede deberse a que el Se promueve la producción de compuestos. (Turakainen *et al.*, 2004) menciona que este elemento tiene efectos positivos en la acumulación de carbohidratos esto puede justificar el efecto positivo en los SST.

Tabla 10. Calidad de frutos de pepino con y sin estrés salino y aplicaciones de selenio.

Tratamiento	Firm (kg)	C.E (dS cm ⁻¹)	pH	ORP (mV)	SST (°Brix)	AT (% Ac. Cit.)
Control	11.1 a	3.7 a	5.6 e	85.1 d	2.9 b	0.12 c
NPsSe 20 mg L ⁻¹	11.1 a	3.4 ab	5.6 d	79.3 c	2.9 b	0.18 ab
NPsSe 50 mg L ⁻¹	11.1 a	2.8 c	5.6 d	80.1 c	3.0 b	0.22 a
Sal	11.1 a	3.1 abc	5.7 c	75.8 b	3.6 a	0.13 bc
Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	11.1 a	3.1 abc	5.8 b	75.0 b	3.7 a	0.16 bc
Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	11.1 a	3.0 bc	5.8 a	69.5 a	3.9 a	0.13 bc
CV (%)	53.5	14.0	0.8	3.5	8.5	24.9

Control: aplicación de agua destilada, NPsSe: aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Sal: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM). Sal + NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM) con aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Firm: Firmeza de fruto. C.E: Conductividad eléctrica. pH: Potencial hidrogeno. ORP: Potencial oxido reducción. SST: Solidos solubles totales. AT: Acidez titulable. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05). CV: coeficiente de variación.

En la Tabla 11 se presentan los resultados del contenido de clorofilas en hojas de pepino, la aplicación de NPsSe en plantas sin estrés provoca un efecto negativo, contrariamente a lo que provocan en plantas con estrés. Es decir, ante este estrés las NPsSe mejoran el contenido de clorofilas aumentando su concentración.

La salinidad (NaCl 50 mM) disminuye de forma significativa el contenido de clorofilas a, b y total en hoja (24.67%, 28.81% y 25.86%).

El tratamiento Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ aumenta la clorofila a (9.43%), b (2.13%) y total (7.31%) con respecto al control. De esta manera la dosis de NPsSe utilizada mejora el contenido de clorofilas en hoja ante el estrés generado por NaCl.

El comportamiento observado concuerda con lo reportado por Netondo *et al.*, (2004) donde mencionan que la salinidad afecta el contenido de clorofilas en plantas de sorgo. También Agastian *et al.*, (2000) obtuvieron una disminución en el contenido de clorofilas en moras. El estrés por salinidad genera cambios en el fotosistema II (Mehta *et al.*, 2010), de esta manera influye negativamente en la producción de productos fotosintéticos. Sin embargo, también la disminución en el contenido de clorofila de la hoja bajo estrés salino se atribuye a la destrucción de pigmentos de clorofila y al desequilibrio de complejo pigmento proteína (Levit, 1980). Además, a la interferencia de los iones de sal con la síntesis de proteínas, el componente estructural de la clorofila y el lugar de descomposición (Jaleel *et al.*, 2007).

La aplicación de NPs puede estimular la producción de clorofilas. Quiterio-Gutierrez *et al.*, (2019) reportan que el contenido de clorofila a, b y el total de estas se aumenta en hojas de plantas de tomate al aplicar 10 mg L⁻¹ de nanopartículas de cobre (NPs Cu) y 20 mg L⁻¹ NPsSe.

El suministro de Se minimiza el daño a los cloroplastos y ayuda a mantener los pigmentos fotosintéticos en condiciones de estrés (Zahedi *et al.*, 2012). En este experimento, el efecto ejercido por las NPsSe puede deberse a cambios químicos internos ocurridos en los fotosistemas.

Los nanomateriales tienen el potencial de habilitar propiedades funcionales nuevas y mejoradas en órganos y organismos fotosintéticos para mejorar el aprovechamiento de la energía solar y la detección bioquímica (Giraldo *et al.*, 2014).

El Se actúa sobre los mecanismos asociados con su regulación y provoca cambios bioquímicos, como el mantenimiento de la turgencia debido al aumento en la producción de pigmentos fotosintéticos (Nawaz *et al.*, 2016).

Mykhaylenko y Zolotareva, (2017) mencionan que los nanocarboxilatos de Se provocan alteraciones en el rendimiento del transporte de electrones fotosintéticos en el fotosistema II. En resumen, la dosificación con NPsSe mitiga el efecto de la salinidad por NaCl, en relación con lo mencionado y mejora la producción de clorofilas en las hojas.

Tabla 11. Pigmentos fotosintéticos en hojas de plantas de pepino.

Tratamiento	Clorofila a (mg 100g ⁻¹ PS)	Clorofila b (mg 100g ⁻¹ PS)	Clorofila total (mg 100g ⁻¹ PS)
Control	68.9 ab	28.0 a	97.0 a
NPsSe 20 mg L ⁻¹	55.7 c	22.7 bc	78.5 c
NPsSe 50 mg L ⁻¹	59.5 bc	23.2 bc	82.8 bc
Sal	51.9 c	19.9 c	71.9 c
Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	67.0 ab	25.1 ab	92.1 ab
Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	75.5 a	28.6 a	104.1 a
CV (%)	12.64	12.1	12.48

Control: aplicación de agua destilada, NPsSe: aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Sal: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM). Sal+NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM) con aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. PS: Peso seco. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05). CV: coeficiente de variación.

En la Tabla 12 se presentan los resultados de los compuestos antioxidantes no enzimáticos donde, en plantas sin estrés y aplicación de NPsSe el contenido de GSH en la hoja disminuyó, en tanto, los flavonoides en plantas con estrés y NPs aumentaron.

De igual manera, en los tratamientos de estrés por NaCl aplicación de NPsSe presentaron el mismo comportamiento obtenido en las hojas en las mismas variables (GSH y flavonoides). En general, la aplicación de NPsSe no modificó el contenido de proteínas en el fruto.

El contenido de proteínas en la hoja disminuyó 11.54% en el tratamiento NPsSe 20 mg L⁻¹, sin embargo, el comportamiento de las NPsSe a esta dosis en plantas con Sal aumentó 2.34%, mientras que en plantas con Sal sin NPsSe redujo el contenido de proteínas 10.17% con respecto al control (Tabla 12).

La aplicación de NPsSe en plantas sin estrés modificó significativamente el contenido de GSH en hojas, de manera que lo redujo: NPsSe 20 mg L⁻¹ (26.43%) y NPsSe 50 mg L⁻¹ (25.86%).

El tratamiento de Sal disminuyó el contenido de flavonoides 3.55%, por el contrario, la aplicación de NPsSe 50 mg L⁻¹ tuvieron un efecto positivo en plantas con estrés, aumentando 19.48% los flavonoides en hojas con respecto al control.

En los frutos de pepino el contenido del antioxidante GSH disminuyó en todos los tratamientos, la aplicación de NPsSe en plantas sin estrés lo redujo 52.08% y Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ 43.75%.

En el contenido de flavonoides se mostró una tendencia inversa a la variable anterior, donde todos los tratamientos mostraron diferencias estadísticas significativas positivas con respecto al control. La aplicación de NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹ incrementaron el contenido 33.52% y 47.65%. El tratamiento NPsSe 50 mg L⁻¹ en plantas con estrés por salinidad (NaCl 50mM) generó el mayor aumento (61.40%).

Con respecto al contenido de fenoles la dosis de NPsSe 20 mg L⁻¹ tienen un efecto negativo en el fruto de plantas sin estrés, ya que reduce 25.32% la concentración de fenoles, contrario a ello, en plantas con estrés salino las NPs actúan de modo que aumenta 3.49% el contenido de flavonoides en el fruto.

En plantas sin estrés las NPsSe 20 mg L⁻¹ ejercen un efecto positivo en el contenido de vitamina C en el fruto, incrementando 43.46%. En tanto, el tratamiento Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ lo reduce 25%.

El estrés abiótico causa un aumento en los niveles de ROS celulares, los flavonoides tienen funciones basadas en la actividad antioxidante de forma que disminuye el estrés oxidativo (Vicente y Boscaiu, 2018). El aumento en el contenido de flavonoides pudo deberse al estrés excesivo ejercido en el tratamiento Sal+ NPsSe 50 mg L⁻¹ pudo estar ligado a las propiedades de carácter antioxidante de los flavonoides y su capacidad para eliminar "especies reactivas de oxígeno" (ROS) que, en exceso, causan daño celular oxidativo (Vicente y Boscaiu, 2018). Por lo cual la planta generó en mayor cantidad estos antioxidantes mecanismo de defensa a su organismo. Astaneh *et al.*, (2017) observó que el Se mejora el sistema antioxidante para tolerar el daño oxidativo por estrés salino en ajo. Esto coincide con los resultados del presente experimento al aumentar los compuestos fenólicos del tratamiento (Sal+NPsSe 20 mg L⁻¹) además de los flavonoides.

Tabla 12. Compuestos antioxidantes no enzimáticos en hojas y frutos de pepino.

Org	Tratamiento	Prot	GSH	Flav	Fen	Vit C
Hoja	Control	120.8 ab	1.7 a	39.9 bc	1.9 ab	Nd
	NPsSe 20 mg L ⁻¹	106.8 c	1.2 b	36.7 c	1.7 ab	Nd
	NPsSe 50 mg L ⁻¹	114.4 abc	1.2 b	35.8 c	1.6 b	Nd
	Sal	108.5 bc	1.4 ab	38.5 bc	1.9 ab	Nd
	Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	123.6 a	1.4 b	43.7 ab	1.7 ab	Nd
	Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	106.4 c	1.5 ab	47.7 a	2.0 a	Nd
	CV (%)	10.13	18.10	12.48	16.96	-
Fruto	Control	344.2 a	0.48 a	24.0 d	2.2 ab	7.0 b
	NPsSe 20 mg L ⁻¹	405.1 a	0.23 c	32.1 bc	1.7 c	10.1 a
	NPsSe 50 mg L ⁻¹	319.5 a	0.23 c	35.5 ab	2.0 abc	6.6 bc
	Sal	345.8 a	0.37 b	29.6 c	1.8 bc	6.8 b
	Sal+NPsSe20 mg L ⁻¹	387.5 a	0.30 bc	30.17 c	2.3 a	7.0 b
	Sal+NPsSe50 mg L ⁻¹	341.6 a	0.27 c	38.8 a	2.0 abc	5.2 c
	CV (%)	21.0	21.3	19.9	22.3	19.9

Org: órgano de la planta. Control: aplicación de agua destilada, NPsSe: aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Sal: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM). Sal+NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM) con aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Prot: proteínas (mg g⁻¹ peso seco); GSH: Glutación reducido (mmol 100g⁻¹ peso seco); Flav: Flavonoides (mg 100 g⁻¹ de peso seco); Fen: Fenoles (mg g⁻¹ de peso seco); Vit C: Vitamina C (mg 100 g⁻¹ de peso seco). Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05). CV: coeficiente de variación.

En la Tabla 13 se observa que el estrés por salinidad aumenta la actividad enzimática de APX en hojas, en cambio, en fruto aumentó por la aplicación de NPsSe 50 mg L⁻¹ a plantas con salinidad. La aplicación de Se aumentó la actividad de GPX en las hojas de pepino, sin embargo, el estrés genera un mayor incremento en la actividad, en fruto el Se no produjo cambios en esta enzima. La adición de NPsSe causó un descenso en la actividad enzimática de SOD del fruto, aunado a ello redujo PAL en hojas.

Las NPsSe en la hoja no provocaron cambios en la actividad de APX, pero NaCl 50mM la aumentó 31.27%. Mientras que en los frutos Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ tuvo un incremento en la actividad de 152.37%.

La dosificación con NPsSe modificó positivamente la actividad de GPX en hojas de plantas sin estrés: NPsSe 20 mg L⁻¹ (110.6%), NPsSe 50 mg L⁻¹ (117.59%) y con estrés: Sal+NPsSe 20 mg L⁻¹ (62.9%) y Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ (72.96%).

El tratamiento Sal+NPsSe 20 mg L⁻¹ aumentó la actividad catalítica (CAT) en las hojas (45.09%) y redujo PAL 9.32% en fruto, en hoja, la aplicación de NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹ la disminuyeron 26.11% y 43.31%.

El estrés salinidad (Sal) y salinidad + NPs (Sal+NPsSe) aumentó la actividad de SOD en la hoja, por el contrario, en el fruto se disminuyó. NPsSe 20 mg L⁻¹ redujo la actividad 21.47% y mayormente Sal+NPsSe 50 mg L⁻¹ un 58.62%.

El estrés en las plantas aumentó la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Entre ellas el H₂O₂ lo que dificulta la función de las enzimas encargadas de metabolizarlo debido a su alto contenido (Sofo *et al.*, 2015). Entre la maquinaria encargada de proteger a la planta contra el estrés oxidativo la conforman enzimas (SOD, CAT, APX, GPX) (Gill y Tuteja, 2010).

El estrés salino en plantas provoca diversos cambios físicos, químicos y bioquímicos donde estas enzimas suelen ser de gran importancia por el exceso de ROS al que se somete la planta al disminuir el flujo de agua e iones (Parida y Das, 2005). El H₂O₂ es metabolizado principalmente por CAT Y APX, donde esta última posee una alta afinidad para reducirlo a H₂O utilizando ascorbato como donante de electrones (Sofo *et al.*, 2015). Un ambiente salino aumenta la concentración de H₂O₂ (Weisany *et al.*, 2012). Al no ser metabolizado

eficientemente la planta sufre muerte celular. Leyva *et al.*, (2011) obtuvieron resultados donde APX aumentó su actividad ante un estrés por NaCl, estos resultados concuerdan con lo obtenido por lo cual se muestra una relación directa entre esta enzima y el estrés generado por la sobreproducción de H₂O₂.

El Se es necesario para la formación de proteínas, incluida GPX (Wu *et al.*, 2015). Este mecanismo es efectivo debido a que el Se actúa directamente sobre la capacidad antioxidante de los selenocompuestos (Pilon-smits *et al.*, 2009). Por ello al tener acceso a Se disponible en optima medida la producción de esta enzima se aumenta aunado a su capacidad en hojas y fruto como muestran los resultados.

La actividad de las enzimas antioxidantes aumentan con una baja toxicidad por acción de NPs, mientras que disminuyen por mayor toxicidad de estas en los cultivos (Rizwan *et al.*, 2016) ya que estos mecanismos alteran la producción de ROS. Con ello se reafirma que la dosis de aplicación utilizada puede ser un estimulante para las enzimas o presentar un nivel tóxico.

La PAL se encarga de catalizar la primera reacción para la formación de metabolitos secundarios importantes en la respuesta de la planta ante un estrés (Huang *et al.*, 2010). Por lo anterior, un aumento en su actividad genera un contenido mayor de metabolitos secundarios (compuestos fenólicos). Los resultados de este experimento se contraponen a lo mencionado por Astaneh *et al.*, (2017) que mencionan: la aplicación de Se en plantas induce un aumento en PAL y proporciona protección. También Guardado-Félix *et al.*, (2017) mencionan que actividad de PAL aumenta significativamente en brotes de garbanzo mediante la aplicación de Se a las semillas. Lo ocurrido en el presente estudio puede deberse a la concentración utilizada siendo desfavorable en hojas, ya que en el fruto la dosis de 50 mg L⁻¹ de NPsSe aumentó por lo que la reacción en los órganos fue diferente.

Tabla 13. Compuestos enzimáticos antioxidantes y fenilalanina amonio liasa en hojas y fruto de pepino.

Org	Tratamiento	APX	GPX	CAT	SOD	PAL
Hoja	Control	97.9 b	14.6 d	24.7 b	8.5 b	1.5 a
	NPsSe 20 mg L ⁻¹	120.1 ab	30.7 abc	19.1 b	6.8 b	1.1 bc
	NPsSe 50 mg L ⁻¹	103.1 ab	31.7 ab	16.9 b	6.5 b	0.89 c
	Sal	128.5 a	34.8 a	16.5 b	12.6 a	1.1 bc
	Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	116.8 ab	23.8 c	35.9 a	12.7 a	1.0 bc
	Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	120.1 ab	25.2 bc	25.6 b	14.3 a	1.3 ab
	CV (%)	21.1	22.0	33.1	24.9	27.6
Fruto	Control	22.0 b	2.0 ab	28.6 a	10.2 a	1.1 bc
	NPsSe 20 mg L ⁻¹	16.8 b	1.1 b	19.9 a	8.0 bc	1.0 c
	NPsSe 50 mg L ⁻¹	20.9 b	2.8 a	26.0 a	9.0 ab	1.5 ab
	Sal	26.6 b	1.5 ab	27.5 a	6.5 cd	1.5 ab
	Sal+NPsSe 20 mg L ⁻¹	13.2 b	0.90 b	27.2 a	5.0 de	1.0 c
	Sal+NPsSe 50 mg L ⁻¹	55.7 a	1.4 b	27.8 a	4.2 e	1.6 a
	CV (%)	85.0	69.2	37.4	23.1	26.1

Org: órgano de la planta. Control: aplicación de agua destilada, NPsSe: aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. Sal: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM). Sal+NPsSe a 20 y 50 mg L⁻¹: plantas sometidas a salinidad (NaCl 50 mM) con aplicación de nanopartículas de selenio a 20 y 50 mg L⁻¹. APX: Ascorbato peroxidasa. GPX: Glutación peroxidasa; CAT: Catalasa. La actividad es presentada por U g⁻¹ de Proteína total (U g⁻¹ PT); SOD: Superóxido dismutasa (U ml⁻¹). PAL: Fenilalanina amonio liasa (U 100 g⁻¹ PT). Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo con Fisher LSD (P ≤ 0.05). CV: coeficiente de variación.

CONCLUSIONES

La aplicación de selenio (NPs y S.S.) aumenta la capacidad antioxidante ABTS, mientras que disminuye la actividad enzimática de GPX y SOD.

NPsSe 10 mg L⁻¹ estimula el contenido de SST y Acidez titulable. Además, disminuyen la altura de la planta, el ORP, pH y el contenido de glutatión reducido (GSH) en el fruto. Esta misma dosis aumenta el contenido de fósforo, azufre, cobre, hierro, manganeso, zinc y níquel en el fruto de pepino. Las NPsSe (20 y 50 mg L⁻¹) aumentan el rendimiento, en plantas de pepino sin estrés.

La salinidad reduce considerablemente el crecimiento y productividad y contenido de clorofilas, en tanto, aumenta el contenido de SST en los frutos y la actividad de SOD y APX en las hojas.

La aplicación de NPsSe (20 mg L⁻¹) aumenta la producción de frutos en plantas estresadas por salinidad.

La aplicación de NPsSe aumenta la actividad de GPX en las hojas de plantas con y sin estrés por salinidad, la dosis de 50 mg L⁻¹ aumenta la actividad de APX en fruto y el contenido de flavonoides en hojas y fruto de pepino con estrés por salinidad.

REFERENCIAS

- Agastian, P., Kingsley, S. & Vivekanandan, M. (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38 (2), 287–290.
- Ahmad, R., Waraich, E. A., Nawaz, F., Ashraf, M. Y., & Khalid, M. (2016). Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants—am it or fact?. *Journal Science Food Agriculture*, 2, 372. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7231>
- Alyemeni, M. N., Ahanger, M. A., & Wijaya, L. (2017). Selenium mitigates cadmium-induced oxidative stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modulating chlorophyll fluorescence, osmolyte accumulation, and antioxidant system. *Protoplasma*, 255, 459–469. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1162-4>
- AOAC. (2000). Determinación de acidez total en productos de frutas Método potenciométrico 5.
- Aouada, F. A., & Moura, de M. R. (2015). Nanotechnology Applied in Agriculture: Controlled Release of Agrochemicals. *Nanotechnologies in Food and Agriculture*, (5) 103–118. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7>
- Ashraf, M. A., Akbar, A., Parveen, A., Rasheed, R., Hussain, I., & Iqbal, M. (2018). Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense and ion homeostasis in maize under salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 268–280. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.023>
- Astaneh, R. K., Bolandnazar, S., Nahandi, F. Z., & Oustan, S. (2017). The effects of selenium on some physiological traits and K⁺, Na⁺ concentration of garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. *Information Processing in Agriculture*, 5, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.003>
- Athar, H. R., & Ashraf, M. (2009). Strategies for crop improvement against salinity and drought stress: An overview. *In Salinity and Water Stress*, (1) 1–16. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9065-3_1
- Azcon, M., & Talon, J. B. (2008). Fundamentos de fisiología vegetal. (M. G. H. Education, Ed.) (2nd ed.) 669. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Badanai, J., Silva, C., Martins, D., Antunes, D., & Miguel, M. G. (2015). Ability of scavenging free radicals and preventing lipid peroxidation of some phenols and ascorbic acid. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5, 34–41. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50806>
- Bajpai, V. K., Kamle, M., Shukla, S., Mahato, D. K., Chandra, P., Hwang, S. K. & Han, Y. K. (2018). Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(4), 1201–1214.

<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.011>

- Baruah, S., & Dutta, A. J. (2009). Nanotechnology applications in pollution sensing and degradation in agriculture : a review. *Environmental Chemistry Letters*, 7, 191–204. <https://doi.org/10.1007/s10311-009-0228-8>
- Battin, E. E., & Brumaghim, A. J. L. (2009). Antioxidant activity of sulfur and selenium : A Review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase , and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochem Biophys*, 55, 1–23. <https://doi.org/10.1007/s12013-009-9054-7>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Technology*, 30, 25–30.
- Cartes, P., Gianfreda, L., Mora, M. L., Li, F., Qui, D. C., & Frontera, U. D. L. (2005). Uptake of Selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. *Plant and Soil*, 276, 359–367. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-5691-9>
- Casierra-Posada, F., & Riaño, G. N. (2006). Producción y calidad de fruta en cultivos de fresa (*Fragaria sp.*) afectados por estrés salino. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 59, 3527–3542.
- Chen, T., Zheng, W., Wong, Y., & Yang, F. (2008). Selenium-induced changes in activities of antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments in spirulina platensis. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1), 40–48. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00600.x>
- Chichiriccò, G., & Poma, A. (2015). Penetration and toxicity of nanomaterials in higher plants. *Nanomaterials*, 5, 851–873. <https://doi.org/10.3390/nano5020851>
- Chomchan, R., Siripongvutikorn, S., & Puttarak, P. (2017). Influence of selenium bio-fortification on nutritional compositions , bioactive compounds content and anti-oxidative properties of young ricegrass (*Oryza sativa L.*). *Functional Foods in Health and Disease*, 7, 195–209.
- Chun, O. K., Kim, D., Smith, N., Schroeder, D., Han, J. T., & Lee, C. Y. (2005). Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1715–1724. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2176>
- Dauthal, P., & Mukhopadhyay, M. (2013). In-vitro free radical scavenging activity of biosynthesized gold and silver nanoparticles using *Prunus armeniaca* (apricot) fruit extract. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84, 277–285. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1366-7>
- De la Rosa, G., García-Castañeda, C., Vasquez-Nuñez, E., Alonso-Castro, J.,

- Basurto-Islas, G., Mendoza, Á., Cruz-Jiménez, G. (2016). Plant Physiology and Biochemistry Physiological and biochemical response of plants to engineered NMs: Implications on future design n García-Casta n. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 226–235. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.014>
- Dhindsa, R. S., Plumb-dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(126), 93–101.
- Dhoke, S. K., Mahajan, P., Kamble, R., & Khanna, A. (2013). by foliar spray method us e ci m er om al. *Nanotechnology Development*, 3:e1, 1–5. <https://doi.org/10.4081/nd.2013.e1>
- Domokos-Szabolcsy, E., Marton, L., Sztrik, A., Babka, B., Prokisch, J., & Fari, M. (2012). Accumulation of red elemental selenium nanoparticles and their biological effects in *Nicotinia tabacum*. *Plant Growth Regul*, 68, 525–531. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9735-x>
- El-ramady, H., Alshaal, T., Elhawat, N., Ghazi, A., Elsakhawy, T., Omara, A. E., & El-nahrawy, S. (2018). Plant nutrients and their roles under saline soil conditions. *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* (Vol. Capitulo 1). <https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8>
- Feng, R. W., & Wei, C. Y. (2012). Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential selenium phytoremediation plant. *Plant Soil Enviromental*, 3, 105–110.
- Feng, R., Wei, C., & Tu, S. (2012). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>
- Fleischer, A., Neill, M. A. O., & Ehwald, R. (1999). The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II 1. *Plant Physiology*, 121, 829–838.
- Fordyce, F. M. (2013). Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology: Revised Edition*, 16, 375–416. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4375-5>
- Gama, P. B. S., Tanaka, K., Eneji, A. E., Eltayeb, A. E., & Siddig, K. El. (2009). Salt-induced stress effects on biomass, photosynthetic rate, and reactive oxygen species-scavenging enzyme accumulation in common bean. *Journal of Plant Nutrition*, 32(5), 837–854. <https://doi.org/10.1080/01904160902787925>
- Ghormade, V., Deshpande, M. V., & Paknikar, K. M. (2011). Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances*, 29(6), 792–803. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.007>

- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). plant physiology and biochemistry reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology et Biochemistry*, 48, 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Giraldo, J. P., Landry, M. P., Faltermeier, S. M., McNicholas, T. P., Iverson, N. M., Boghossian, A. A., & Strano, M. S. (2014). Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nature Materials*, 13, 400–408. <https://doi.org/10.1038/NMAT3890>
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Journal Pathology*, 119, 329–339. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6776-1_8
- Guardado-félix, D., Serna-saldivar, S. O., Cuevas-rodríguez, E. O., Jacobo-velázquez, D. A., & Gutiérrez-uribe, J. A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 226, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.046>
- Gupta, M., & Gupta, S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>
- Hafeez, A., Razzaq, A., Mahmood, T., & Jhazab, H. M. (2015). potential of copper nanoparticles to increase growth and yield of wheat. *Journal of Nanoscience with Advanced Technology Potential*, 1, 6–11. <https://doi.org/10.24218/jnat.2015.02>
- Hanson, B., Lindblom, S. D., Loeffler, M. L., & Pilon-Smits, E. A. H. (2004). Selenium protects plants from phloem-feeding aphids due to both deterrence and toxicity. *New Phytologist*, 162(3), 655–662. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01067.x>
- Hasanuzzamán, M., Hossain, A. M., & Fujita, M. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Plant Science*, 4, 354–375.
- Hawrylak-nowak, B. (2009). Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. *Biological Trace Element Research*, 132, 259–269. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8402-1>
- Hawrylak-nowak, B. (2013). Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. *Plant Growth Regul*, 70, 149–157. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9788-5>
- Hu, Q., Xu, J., & Pang, G. (2003). Effect of selenium on the yield and quality of green tea leaves harvested in early spring. *Agricultura Food Food*, 51, 3379–3381. <https://doi.org/10.1021/jf0341417>

- Hu, Y., Norton, G. J., Duan, G., Huang, Y., & Liu, Y. (2014). Effect of selenium fertilization on the accumulation of cadmium and lead in rice plants. *Plant Soil*, 384, 131–140. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2189-3>
- Huang, J., Gu, M., Lai, Z., Fan, B., Shi, K., Zhou, Y., Yu, J. & Chen, Z. (2010). Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth , development, and response to environmental stress. *Plant Physiology*, 153, 1526–1538. <https://doi.org/10.1104/pp.110.157370>
- Huang, S., Wang, L., & Liu, L. (2014). Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China . A review. *Agronomy for Sustainable Development*, (28), 32. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0274-x>
- Jacob, R. A., & Sotoudeh, G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. nutrition in clinical care banner. *Nutrition in Clinical Care*, 5(2), 66–74. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5408.2002.00005.x>
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Alagu, G. M., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2007). NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in *Phyllanthus amarus*. *Science Direct*, 330, 806–813. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2007.08.009>
- Kepenek, K., & Koyuncu, F. (2002). Studies on the salt tolerance of some strawberry cultivars under glasshouse. *Acta Horticulturae*, 573, 297–304. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.573.34>
- Khan, A. U., Wei, Y., Ul, Z., Khan, H., Tahir, K., Khan, S. U., & Ahmad, A. (2015). Electrochemical and antioxidant properties of biogenic silver nanoparticles. *International Journal of Electrirochemical Science*, 10, 7905–7916.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-parilla, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos 1. *Ciencia Tecnología Alimentos*, 24(4), 691–693.
- Läuchli, A., & Grattan, S. R. (2007). Plant growth and development under salinity stress. *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, 1, 1–32).
- Levit, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. New York, 2.
- Leyva, R., Sánchez-rodríguez, E., Ríos, J. J., Rubio-wilhelmi, M. M., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2011). Plant science beneficial effects of exogenous iodine in lettuce plants subjected to salinity stress. *Plant Science*, 181, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.05.007>
- Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>
- Liu, W. (2006). Nanoparticles and their biological and environmental applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102(1), 1–7. <https://doi.org/10.1263/jbb.102.1>

- Ma, X., Geiser-lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408(16), 3053–3061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.031>
- Mateja, G., Vekoslava, S., & Kreft, I. (2007). Metabolic Importance of Selenium for Plants. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1(1), 91–97.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., & Bharti, S. (2010). Plant physiology and biochemistry chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem ii in wheat leaves. *Plant Physiology et Biochemistry*, 48(1), 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.10.006>
- Monica, R. C., Cremonini, R., Monica, R. C., & Cremonini, R. (2017). Nanoparticles and higher plants Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62, 161–165. <https://doi.org/10.1080/00087114.2004.10589681>
- Mosa, K. A., El-naggar, M., Ramamoorthy, K., & Valencia, J. P. (2018). Copper nanoparticles induced genotoxicity, oxidative stress, and changes in superoxide dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plants*, 9, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00872>
- Mukherjee, P. K., Nema, N. K., Maity, N., & Sarkar, B. K. (2013). Fitoterapia phytochemical and therapeutic potential of cucumber. *Fitoterapia*, 84, 227–236. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.10.003>
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 239–250. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
- Mykhaylenko, N. F., & Zolotareva, E. K. (2017). The effect of copper and selenium nanocarboxylates on biomass accumulation and photosynthetic energy transduction efficiency of the green algae *Chlorella vulgaris*. *Nanoscale Research Letters*, 12:147. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1914-2>
- Nagata, M., & Yamashita, I. (1992). Method tomato masayasu national nagata and ichiji yamashita of vegetables ornamental plants and tea. *Forestry and Fisheries*, 39, 925-928.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D. S. (2010). Plant science nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, 179(3), 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.04.012>
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J., Antonietta, A. M. & Peter, Q. (2008). Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17, 372–386. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0214-0>
- Nawaz, F., Naeem, M., Ashraf, M. Y., Tahir, M. N., Zulfiqar, B., Salahuddin, M., Shabir, R. & Aslam, M. (2016). Selenium supplementation affects

- physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01438>
- NCPI. (2011). Nanotechnology consumer products inventory. <http://www.nanotechproject.org>.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C., & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: ii. gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science Society of America*, 44, 806–811.
- Oz̃bolt, L., Kreft, S., Kreft, I., Germ, M., & Stibilj, V. (2008). Distribution of selenium and phenolics in buckwheat plants grown from seeds soaked in Se solution and under different levels of UV-B radiation. *Food Chemistry*, 110, 691–696. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.073>
- Özer, E. A., Özcan, M., & Didin, M. (2014). Nanotechnology in food and agriculture industry. *Nanotechnology in Food and Agriculture Industry*. (477–497). <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1378-7>
- Ozgen, M., Reese, N. R., Tulio Jr., A. Z., Cheerens, J. O. C. S., & Miller, A. R. (2006). Modified 2, 2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1151–1157. <https://doi.org/10.1021/jf051960d>
- Parida, A. K., & Das, B. A. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Pedrero, Z., Madrid, Y., Helina, H., & Cámara, C. (2008). Protective effect of selenium in broccoli (*Brassica oleracea*) plants subjected to cadmium exposure. *Agricultural and Food Chemistry*, 56, 266–271. <https://doi.org/10.1021/jf072266w>
- Pilon-smits, E. A. H., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., & Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Plant Biology*, 12, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>
- Pinedo-guerrero, Z. H., Delia, A., Ortega-ortiz, H., Benavides-mendoza, A., Cadenas-pliego, G., & Ju, A. (2017). Cu nanoparticles in hydrogels of chitosan-pva affects the characteristics of post-harvest and bioactive compounds of jalapeño pepper. *Molecules*, 22(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22060926>
- Pitman, M. G., & Läuchli, A. (2002). Global impact of salinity and agricultural ecosystems. *In Salinity: Environment-Plants-Molecules* 1, 3–20. https://doi.org/10.1007/0-306-48155-3_1
- Plader, W., Burza, W., & Malepszy, S. (2007). Cucumber. *Biotechnology in*

Agriculture and Forestry, 3, 59, 20.

- Puccinelli, M., Malorgio, F., & Pezzarossa, B. (2017). Selenium enrichment of horticultural crops. *Molecules*, 22, 1–18. <https://doi.org/10.3390/molecules22060933>
- Quiterio-Gutierrez, T., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Hernandez-Fuentes, A. D., Sandoval-rangel, A., Benavides-mendoza, A., Cabrera- de la Fuente, M. & Juaréz-Maldonado, A. (2019). The application of selenium and copper nanoparticles modifies the biochemical responses of tomato plants under stress by *Alternaria solani*. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1950. <https://doi.org/doi:10.3390/ijms20081950>
- Ramos, S. J., Faquin, V., Guilherme, L. R. G., Castro, E. M., Ávila, F. W., & Carvalho, G. S. (2010). Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil Enviromental*, 12, 584–588.
- Rayman, M. P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet*, 379, 1256-1268. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61452-9)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(98), 1231–1237.
- Reigosa, M. J., Pedrol, N., & Sánchez, A. (2004). La ecofisiología vegetal. (Thomsom, Ed.) pp. 1193.
- Renkema, H., Koopmans, A., Kersbergen, L., Kikkert, J., Hale, B., & Berkelaar, E. (2012). The effect of transpiration on selenium uptake and mobility in durum wheat and spring canola. *Plant and Soil*, 354(1–2), 239–250. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-1069-3>
- Rico, C., Morales, M. I., Barrios, A. C., McCreary, R. Hong, J., Lee, W., Nunez, J., Peralta-Videa, J. & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Effect of cerium oxide nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Enviromental Science & Technology*, 61, 11278-11285. <https://doi.org/10.1021/es401032m>
- Rico, C. M., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2015). Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. In *Nanotechnology and plant sciences* 1,1–17. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14502-0>
- Rios, J. ., Blasco, B., Cervilla, L. M., Rosales, M. A., Sanchez-Romero, E., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2009). Production and detoxification of H 2 O 2 in lettuce plants exposed to selenium. *Animals of Applied Biology*, 154, 107–116. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00276.x>
- Rizwan, M., Ali, S., Farooq Qayyum, M., Sik Ok, Y., Adrees, M., Ibrahim, M., ... Abbas, F. F. (2016). Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review. *Journal of*

Hazardous Materials, 322, 2–16.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.061>

- Saffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A., & Bayat, H. (2012). Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *Notulae Scientia Biologicae*, 4, 95–100.
- Seppänen, M., Turakainen, M., & Hartikainen, H. B. (2003). Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science*, 165, 311–319.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00085-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00085-2)
- Sharma, V., Kumar, A., & Dhawan, A. (2012). Nanomaterials: exposure, effects and toxicity assessment. *Procedimientos de La National Academy of Sciences, India Sección B: De Ciencias Biológicas*, 82, 3–11.
<https://doi.org/10.1007/s40011-012-0072-7>
- Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123–131.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- SIAP. (2018). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. *Margenes de comercialización*, pp. 4.
- Siddiqui, M. H., Al-wahaibi, M. H., & Firoz, M. (2015). Role of nanoparticles in plants. *In Nanotechnology and Plant Sciences*. pp. 19–35.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-14502-0>
- Singh, A., Singh, N. B., Hussain, I., Singh, H., & Singh, S. (2015). Plant-nanoparticle interaction: An approach to improve agricultural practices and plant productivity. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 4(8), 25–40.
- Singleton, C. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178.
- Skalickova, S., Sc, M., Milosavljevic, V., Sc, M., Cihalova, K., Sc, M., Horky, P., Richtera, L., & Adam, V. (2017). Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*, 33, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.05.001>
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 13561–13578. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>
- Sors, T. G., Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86, 373–389. <https://doi.org/10.1007/s1120-005-5222-9>
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition by abram a. steiner. *Plant and Soil*, 15(2), 20.

- Sudha, G., Priya, M. S., Babu, R., Shree, I., & Vadivukkarasi, S. (2012). Antioxidant activity of ripe and unripe pepino fruit (*Solanum muricatum* Aiton). *Journal of Food Science*, 77(11), 1131–1135. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02944.x>
- Syklowska-Baranek, K., Pietrosiuk, A., Naliwajski, M. R., Kawiak, A., Jeziorek, M., Wyderska, S., Lojkowska, E. & Chinou, I. (2012). Effect of L-phenylalanine on PAL activity and production of naphthoquinone pigments in suspension cultures of *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. *Plant*, 48, 555–564. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9443-2>
- Terry, N., Zayed, A. M., P, D. S. M., & S., T. A. (2000). Selenium in higher plants. *Plant Physiology*, 51, 401–432.
- Tinggi, U. (2003). Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia : a review. *Toxicology Letters*, 137, 103–110.
- Toan, Q. D., Cui, Z., Huang, J., Anh, T., Tran, T., Wang, D., & Yang, W. (2018). Selenium distribution in the chinese environment and its relationship with human health: A review. *Environment International*, 112(December 2017), 294–309. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.12.035>
- Trajkova, F., & Papadantonakis, N. (2006). Comparative effects of nacl and cacl 2 salinity on cucumber grown in a closed hydroponic system. *HortiScience*, 41(2), 437–441. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.2.437>
- Tuna, A. L., Kaya, C., Dikilitas, M., & Higgs, D. (2008). The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*, 62, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.06.007>
- Turakainen, M., Hartikainen, H., & Mervi, S. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Agricultural and Food Chemistry*, 1, 5378–5382. <https://doi.org/10.1021/jf040077x> CCC:
- Valero, P., Fletcher, A. E., & Stavola, B. L. De. (2018). Vitamin C is associated with reduced risk of cataract in a mediterranean. *Nutritional Epidemiology*, 132(April), 1299–1306. <https://doi.org/doi.org/10.1093/jn/132.6.1299>
- Vicente, O., & Boscaiu, M. (2018). Flavonoids: ntioxidant compounds for plant defence ... and for a healthy human diet. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanic Cluj-Napoca*, 46, 14–21. <https://doi.org/10.15835/nbha45210992>
- Wang, Q., Ma, X., Zhang, W., Pei, H., & Chen, Y. (2012). Metallomics The impact of cerium oxide nanoparticles on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its implications for food safety. *Metallomics*, 4, 1105–1112. <https://doi.org/10.1039/c2mt20149f>
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., & Siosemardeh, A. (2012). Changes in

- antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal*, 5, 60–67.
- Wu, Z., Bañuelos, G. S., Lin, Z.-Q., Liu, Y., Yuan, L., Yin, X., & Li, M. (2015). Biofortification and phytoremediation of selenium in China. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00136>
- Xue, T., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237, 55–61. <https://doi.org/10.1023/A:1013369804867>
- Yadollahi, A., Arzani, K., & Khoshghalb, H. (2010). The role of nanotechnology in horticultural crops postharvest management. *Acta Horticulturae*, 875, 49–56. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.875.4>
- Zahedi, H., Hossein, A., Rad, S., Reza, H., & Moghadam, T. (2012). Short communication effect of zeolite and selenium foliar application on growth, production and some physiological attributes of three canola (*Brassica napus* L.) cultivars subjected to drought stress. *Notulae Scientia Biologicae*, 12, 135–142. <https://doi.org/2067-3264>